



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

<p>(51) Classification internationale des brevets ⁶ : A01N 61/00, 59/26, 57/12, 43/16 // (A01N 59/26, 65:00, 63:04, 63:02, 61:00, 43:82, 43:16, 37:46, 37:40) (A01N 57/12, 65:00, 63:04, 63:02, 61:00, 43:82, 43:16, 37:46, 37:40) (A01N 43/16, 61:00, 43:82, 37:40)</p>	<p>A1</p>	<p>(11) Numéro de publication internationale: WO 99/53761 (43) Date de publication internationale: 28 octobre 1999 (28.10.99)</p>
<p>(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR99/00844 (22) Date de dépôt international: 12 avril 1999 (12.04.99) (30) Données relatives à la priorité: 98/05043 16 avril 1998 (16.04.98) FR 99/01811 11 février 1999 (11.02.99) FR (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): RHONE-POULENC AGRO [FR/FR]; 14-20, rue Pierre Baizet, F-69009 Lyon (FR). (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): FRITIG, Bernard [FR/FR]; 6, rue du Hohwald, F-67460 Sauffelwegersheim (FR). KOPP, Marguerite [FR/FR]; 2, chemin du Riesling, F-67120 Wolxheim (FR). SAINDRENAN, Patrick [FR/FR]; 28, rue de Bruxelles, F-67000 Strasbourg (FR). LATORSE, Marie-Pascale [FR/FR]; Le Jannot, F-69210 Sourcieux les Mines (FR). LABOURDETTE, Gilbert [FR/FR]; Bâtiment C, 203, résidence Notre Dame, F-71600 Paray le Monial (FR).</p>	<p>(74) Représentant commun: RHONE-POULENC AGRO; Boîte postale 9163, F-69263 Lyon Cedex 09 (FR). (81) Etats désignés: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>Publiée Avec rapport de recherche internationale.</p>	
<p>(54) Title: NOVEL USE OF ANTIFUNGAL AND/OR ANTIBACTERIAL AND/OR ANTIVIRAL COMPOUNDS (54) Titre: NOUVELLE UTILISATION DE COMPOSES ANTIFONGIQUES ET/OU ANTIBACTERIENS ET/OU ANTIVIRAUX (57) Abstract The invention concerns in particular the novel use of a phosphorous acid derivative as amplifier (potentiator) of plant defence responses. (57) Abrégé La présente invention concerne particulièrement l'utilisation nouvelle d'un dérivé de l'acide phosphoreux comme amplificateur (potentialisateur) des réponses de défenses des plantes.</p>		

BEST AVAILABLE COPY

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	B Brésil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakhstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

**Nouvelle utilisation de composés antifongiques et/ou antibactériens
et/ou antiviraux.**

La présente invention concerne l'utilisation nouvelle d'un ou plusieurs
5 dérivé B comme amplificateur (potentialisateur) des réponses physiologiques des
plantes, par exemple des réponses de défenses des plantes aux agents pathogènes.
L'application d'un ou plusieurs éliciteur A permet d'induire chez la plante un
certain niveau de défense. Il a été trouvé que l'emploi de certains composés B, par
exemple des antifongiques et/ou antibactériens et/ou antiviraux, permet
10 d'amplifier ces réponses obtenues par le seul emploi d'éliciteurs A.

Les mécanismes de défense naturelle induite chez les plantes, dont le
modèle type est la réaction d'hypersensibilité (HR), sont constitués d'une cascade
complexe d'événements impliquant la perception par la plante du microbe ou d'un
composé microbien ("éliciteur"), la mort des cellules atteintes et la production de
15 signaux et messagers chimiques divers. Ces signaux et messagers chimiques vont
induire des changements métaboliques associés à la défense active : activation de
la phénylalanine ammoniac-lyase (PAL), enzyme clé de la voie des
phénylpropanoïdes conduisant à la biosynthèse de composés aromatiques à
activité antibiotiques (phytoalexines), des molécules de signalisation comme
20 l'acide salicylique (AS) ou encore des molécules structurales (lignine); activation
de la voie octadécanoïque et en particulier de la lipoxycgénase (LOX) capable de
générer des hydroperoxydes et des radicaux libres impliqués dans la mort
cellulaire, ou des molécules de signalisation comme l'acide jasmonique.

Par effet de potentialisation, on entend une activité de sensibilisation de
25 la plante ou de cellules à répondre de manière fortement amplifiée à une
sollicitation ultérieure, par exemple un traitement par un éliciteur. Un
potentialisateur sera donc un composé (une molécule) et/ou un mélange de
composé qui sensibilise la plante à répondre de manière amplifiée lors de
l'application d'une (ou plusieurs) autre molécule élicitrice. Il a été trouvé que ce
30 potentialisateur peut lui même être doué de propriétés élicitrices.

Le composé éliciteur A est choisi dans la liste de composés comprenant
des protéines, des oligosaccharides (comme par exemple le tréhalose), des
polysaccharides (comme par exemple le produit Elexa™, marque déposée par
Agricultural Glycosystems Inc. ou Chitosan™), des lipides, des glycolipides, des
35 glycoprotéines, des peptides d'origine diverses, des extraits d'algues, des extraits

de parois issus de matériel végétal (par exemple d'algues) et/ou de champignons, des champignons, le Bion™ (marque déposée par Novartis pour le composé BTH ou CGA 245704) et/ou l'un de ses analogues (notamment ceux connus par le brevet européen EP 313512 et la demande de brevet européen EP 0690061), des extraits de levure, de l'acide salicylique et/ou l'un ou plusieurs de ses esters.

De préférence, le composé A éliciteur est un (ou plusieurs) extrait d'algues (hydrolysats), comme par exemple les oligopeptides décrites dans le document WO98/47375, incorporé ici par référence.

Encore plus avantageusement, la liste, non exhaustive, des algues pouvant être utilisées dans le cadre de la présente invention sont des algues éventuellement proposées par la société Agrocean, telles que par exemple Agrimer 540, CAL, Agrotonic, Laminaria sp. (*Laminaria digitalis*, *Laminaria saccharina*, *Laminaria hyperborea*), Ascophyllum sp. (*Ascophyllum nodosum*), Himanthalla sp. (*Himanthalla elongata*), Undaria sp. (*Undaria pinnatifida*), Fucus sp. (*Fucus vesiculum*), Ulva sp., Chondrus sp., Enteromorpha sp.

Le composé potentialisateur B est choisi dans la liste de composés comprenant les dérivés de l'acide phosphoreux comme les phosphites métalliques tel que le fosétyl-Al, le fosétyl-Na, et l'acide phosphoreux lui-même et ses sels alcalins ou alcalino-terreux, le Bion™ (BTH ou CGA 245704) et/ou l'un de ses analogues, le produit Elexa™, l'INA (acide isonicotinique), le BABA (acide aminobutyrique), le jasmonate de méthyle (MeJa).

Le fosétyl Al et l'acide phosphoreux ont été prioritairement choisis comme potentialisateurs dans l'expérimentation biologique mais pour des raisons de toxicité du fosétyl Al sur culture cellulaire de tabac nous lui avons substitué le fosétyl de sodium dans les tests cellulaires.

L'utilisation de système modèle simplifié tels les cultures cellulaires traitées par des éliciteurs de natures variées permet de mimer parfaitement la HR tout en se débarrassant de la composante spatiale inhérente à la plante entière, et d'avoir accès aux événements précoces de signalisation intracellulaire. Nous abordons dans cette invention la problématique de la potentialisation des réponses de défense par des substances chimiques.

Les éliciteurs ont été choisis appartenant à différentes catégories protéiques et saccharidiques mais ne sont pas les mêmes pour les tests cellulaires et biologiques sur plantes.

Le bion™ (BTH) est le produit de référence éliciteur choisi et la raison pour laquelle le couple oidium/blé a été retenu dans les manipulations biologiques préliminaires réalisées.

Afin de décortiquer les phénomènes induits par l'application du potentialisateur d'une part et de l'éliciteur d'autre part, l'ensemble des essais

préliminaires concernant des traitements séquentiels (séparés dans le temps) entre potentialisateur et éliciteurs. Cela n'exclut pas que les deux types de produits soient mis en mélanges ou que ceux-ci soient utilisés simultanément (bien que non en mélanges).

5 Les différents éliciteurs (fragments pariétaux de *Phytophthora megasperma* H20, oligomères de pectine, une élicitine produite par *P. megasperma*, la β -mégaspermine) sont préparés dans l'eau. Le pH des solutions est ajusté si nécessaire autour de 5,5.

10 L'acide phosphoreux, le fosétyl-Na, le fosétyl-Al, l'ester d'acide salicylique et le produit Elexa™ (E) sont préparés dans l'eau. Le BTH est préparé dans le DMSO pour les tests sur cellules de tabac et est utilisé sous la forme commerciale Bion™ (ou Bendicar™) pour les tests sur plantes.

Enfin, des éliteurs peuvent avoir un effet également potentialisateur par rapport à d'autres éliciteurs comme c'est le cas du BTH ou d'Elexa™.

15

La présente invention concerne particulièrement l'utilisation nouvelle de l'acide phosphoreux et/ou de l'un de ses dérivés comme amplificateur (potentialisateur) des réponses de défenses des plantes.

20 La présente invention concerne en particulier l'effet potentialisateur de l'acide phosphoreux (H₃PO₃) et du fosétyl-Na, mais aussi du Bion™, sur les réponses de défense du tabac (induction des activités PAL, LOX, production d'AS) après application d'éliciteurs de natures diverses tels i) des oligosaccharides de types β -glucane isolés de parois de *Phytophthora megasperma* (Pmg), ii) des oligomères de pectine, iii) la β -mégaspermine, protéine sécrétée par *P. megasperma* H20.

25

La présente invention concerne en particulier l'effet potentialisateur de l'acide phosphoreux (H₃PO₃) et du fosétyl-Al, mais aussi de l'Elexa™, sur les réponses obtenues, dans le cadre des essais biologiques, par l'application d'éliciteurs de nature diverse (extrait d'algues, Elexa™, Bion™, acide salicylique et/ou ester, extrait de levure, tréhalose, spores tuées ou non d'un champignon non hôte (spores d'oïdium de l'orge)).

30

Il est bien entendu, et également inclus dans le cadre de la présente invention, que l'utilisation décrite ci-dessus peut être éventuellement complétée par un traitement fongicide classique à l'aide d'un fongicide connu, ce traitement pouvant avoir lieu simultanément ou séparément des applications de A et/ou B.

35

La présente invention a aussi pour objet une composition antifongique et/ou antibactérienne et/ou antivirale synergique comprenant un éliciteur et un dérivé de l'acide phosphoreux et un procédé mettant en oeuvre ladite composition

et destiné à protéger, à titre curatif ou préventif, les cultures contre les attaques fongiques.

Il est toujours désirable d'améliorer le spectre d'activité et l'efficacité de tels composés à action antifongique, ou de les renforcer en les associant à d'autres molécules afin d'obtenir un produit plus performant ou encore de prévenir l'apparition de souches fongiques résistantes à ces nouveaux antifongiques.

Il est également très souhaitable de disposer de produits antifongiques bénéficiant d'une persistance d'action améliorée, de nature à espacer dans le temps le nombre de traitements phytosanitaires nécessaires au bon contrôle des parasites.

Il est dans tous les cas particulièrement avantageux de pouvoir diminuer la quantité de produits chimiques épandus dans l'environnement, tout en assurant une protection performante des cultures contre les attaques fongiques.

Il a maintenant été trouvé qu'un (ou plusieurs) des objectifs précédents pouvait être atteint grâce à la présente invention.

La présente invention a aussi pour objet une composition antifongique et/ou antibactérienne et/ou antivirale synergique comprenant comme composé A un ou plusieurs éliciteur d'origine et de nature diverse, et au moins un composé antifongique B choisi dans le groupe comprenant les dérivés de l'acide phosphoreux comme les phosphites métalliques tel que le fosétyl-Al, le fosétyl-Na, l'acide phosphoreux lui-même et/ou ses sels alcalins ou alcalino-terreux, un ou plusieurs composés éliciteur doué également de propriété potentialisatrice.

Il est bien entendu que ladite composition antifongique et/ou antibactérienne et/ou antivirale peut renfermer un seul composé B ou plus d'un tel composé, par exemple 1, 2 ou 3 composés B selon l'utilisation à laquelle elle est destinée.

Parmi les significations plus spécialement préférées du composé B définies ci-dessus, on préfère encore le fosétyl Al.

De manière parfaitement inattendue, la composition selon l'invention améliore alors de façon notable l'action des matières actives prises séparément pour un nombre de champignons particulièrement nuisibles pour les cultures monocotylédones, comme en particulier le blé, le riz, l'orge, et dicotylédones, comme en particulier la vigne ou les solanées. Cette amélioration se traduit notamment par une diminution des doses de chacun des constituants, ce qui est particulièrement avantageux pour l'utilisateur et l'environnement.

Le mélange (appliqué simultanément ou séparément) antifongique et/ou antibactérien et/ou antiviral présente ainsi des propriétés synergiques attestées par l'application de la méthode définie par Limpel, L.E., P.H. Schuldt et D.Lammont, 1962, Proc. NEWCC 16:48-53, en utilisant la formule suivante, encore appelée
5 formule de Colby :

$$E = X + Y - X.Y/100$$

dans laquelle:

10 - E est le pourcentage attendu d'inhibition de la croissance du champignon par un mélange des deux antifongiques A et B à des doses définies, respectivement égales à a et b ;

- X est le pourcentage d'inhibition observé par le composé antifongique et/ou antibactérien et/ou antiviral A à la dose a,

15 - Y est le pourcentage d'inhibition observé par le composé antifongique et/ou antibactérien et/ou antiviral B à la dose b.

Quand le pourcentage d'inhibition observé du mélange est supérieur à E, il y a synergie.

20 Les structures correspondant aux noms communs des matières actives B sont indiquées dans l'un au moins des 2 ouvrages suivants:

- "The pesticide manual" édité par Clive TOMLIN et publié par le British Crop Protection Council, 11ème édition (page 629);

25 - l'Index phytosanitaire 1998, édité par l'Association de Coordination Technique Agricole, 34ème édition.

La composition antifongique et/ou antibactérienne et/ou antivirale selon l'invention comprend, comme matière active, un composé A et au moins un composé B en mélange avec les supports solides ou liquides, acceptables en agriculture et/ou les agents tensio-actifs également acceptables en agriculture. En
30 particulier sont utilisables les supports inertes et usuels et les agents tensio-actifs usuels. Ces compositions recouvrent non seulement les compositions prêtes à être appliquées sur la culture à traiter au moyen d'un dispositif adapté, tel qu'un dispositif de pulvérisation, mais également les compositions concentrées commerciales qui doivent être diluées avant application sur la culture. On désigne

par matière active la combinaison d'au moins un composé A avec au moins un composé B.

Ces compositions peuvent contenir aussi toute sorte d'autres ingrédients tels que, par exemple, d'autres fongicides connus, des colloïdes protecteurs, des adhésifs, des épaississants, des agents thixotropes, des agents de pénétration, des stabilisants, des séquestrants, etc... Plus généralement les composés A et B peuvent être combinés à tous les additifs solides ou liquides correspondant aux techniques habituelles de la mise en formulation.

D'une façon générale, les compositions selon l'invention contiennent habituellement de 0,05 à 95 % (en poids) de matière active, un ou plusieurs supports solides ou liquides et, éventuellement, un ou plusieurs agents tensioactifs.

Par le terme "support", dans le présent exposé, on désigne une matière organique ou minérale, naturelle ou synthétique, avec laquelle la matière active est combinée pour faciliter son application sur les parties aériennes de la plante. Ce support est donc généralement inerte et il doit être acceptable en agriculture, notamment sur la plante traitée. Le support peut être solide (argiles, silicates naturels ou synthétiques, silice, résines, cires, engrais solides, etc...) ou liquide (eau, alcools, notamment le butanol etc...).

L'agent tensioactif peut être un agent émulsionnant, dispersant ou mouillant de type ionique ou non ionique ou un mélange de tels agents tensioactifs. On peut citer par exemple des sels d'acides polyacryliques, des sels d'acides lignosulfoniques, des sels d'acides phénolsulfoniques ou naphthalènesulfoniques, des polycondensats d'oxyde d'éthylène sur des alcools gras ou sur des acides gras ou sur des amines grasses, des phénols substitués (notamment des alkylphénols ou des arylphénols), des sels d'esters d'acides sulfosucciniques, des dérivés de la taurine (notamment des alkyltaurates), des esters phosphoriques d'alcools ou de phénols polyoxyéthylés, des esters d'acides gras et de polyols, les dérivés à fonction sulfates, sulfonates et phosphates des composés précédents. La présence d'au moins un agent tensioactif est généralement indispensable lorsque la matière active et/ou le support inerte ne sont pas solubles dans l'eau et que l'agent vecteur de l'application est l'eau.

Ainsi donc, les compositions à usage agricole selon l'invention peuvent contenir la matière active dans de très larges limites, allant de 0,05 % à 95 % (en poids). Leur teneur en agent tensio-actif est avantageusement comprise entre 5 %

et 40 % en poids. Sauf indication contraire les pourcentages donnés dans cette description, incluant les revendications, sont en poids.

Ces compositions selon l'invention sont elles-mêmes sous des formes assez diverses, solides ou liquides.

5 Comme formes de compositions solides, on peut citer les poudres pour poudrage (à teneur en matière active pouvant aller jusqu'à 100 %) et les granulés, notamment ceux obtenus par extrusion, par compactage, par imprégnation d'un support granulé, par granulation à partir d'une poudre (la teneur en matière active dans ces granulés étant entre 0,5 et 80 % pour ces derniers cas), les comprimés ou
10 tablettes effervescentes.

La composition antifongique et/ou antibactérienne et/ou antivirale selon l'invention peut encore être utilisée sous forme de poudres pour poudrage ; on peut aussi utiliser une composition comprenant 50 g de matière active et 950 g de talc ; on peut aussi utiliser une composition comprenant 20 g de matière active, 10 g de
15 silice finement divisée et 970 g de talc ; on mélange et broie ces constituants et on applique le mélange par poudrage.

Comme formes de compositions liquides ou destinées à constituer des compositions liquides lors de l'application, on peut citer les solutions, en particulier les concentrés solubles dans l'eau, les émulsions, les suspensions
20 concentrées, les aérosols, les poudres mouillables (ou poudre à pulvériser), les pâtes, les gels.

Les suspensions concentrées, applicables en pulvérisation, sont préparées de manière à obtenir un produit fluide stable ne se déposant pas et elles contiennent habituellement de 10 à 75 % de matière active, de 0,5 à 15 % d'agents tensioactifs, de 0,1 à 10 % d'agents thixotropes, de 0 à 10 % d'additifs appropriés,
25 comme des anti-mousses, des inhibiteurs de corrosion, des stabilisants, des agents de pénétration et des adhésifs et, comme support, de l'eau ou un liquide organique dans lequel la matière active est peu ou pas soluble : certaines matières solides organiques ou des sels minéraux peuvent être dissous dans le support pour aider à
30 empêcher la sédimentation ou comme antigels pour l'eau.

A titre d'exemple, voici une composition de suspension concentrée :

Exemple SC 1 :

35 - matière active 500 g

	- phosphate de tristyrylphénol polyéthoxylé	50 g
	- alkylphénol polyéthoxylé	50 g
	- polycarboxylate de sodium	20 g
	- éthylène glycol	50 g
5	- huile organopolysiloxanique (antimousse)	1 g
	- polysaccharide	1,5 g
	- eau	316,5 g

Les poudres mouillables (ou poudre à pulvériser) sont habituellement préparées de manière qu'elles contiennent 20 à 95 % de matière active, et elles contiennent habituellement, en plus du support solide, de 0 à 30 % d'un agent mouillant, de 3 à 20 % d'un agent dispersant, et, quand c'est nécessaire, de 0,1 à 10 % d'un ou plusieurs stabilisants et/ou autres additifs, comme des agents de pénétration, des adhésifs, ou des agents antimottants, colorants, etc...

Pour obtenir les poudres à pulvériser ou poudres mouillables, on mélange intimement les matières actives dans les mélangeurs appropriés avec les substances additionnelles et on broie avec des moulins ou autres broyeurs appropriés. On obtient par là des poudres à pulvériser dont la mouillabilité et la mise en suspension sont avantageuses ; on peut les mettre en suspension avec de l'eau à toute concentration désirée et ces suspensions sont utilisables très avantageusement en particulier pour l'application sur les feuilles des végétaux.

A la place des poudres mouillables, on peut réaliser des pâtes. Les conditions et modalités de réalisation et d'utilisation de ces pâtes sont semblables à celles des poudres mouillables ou poudres à pulvériser.

A titre d'exemple, voici diverses compositions de poudres mouillables (ou poudres à pulvériser) :

Exemple PM 1

	- matière active	50%
30	- alcool gras éthoxylé (agent mouillant)	2,5%
	- phényléthylphénol éthoxylé (agent dispersant)	5%
	- craie (support inerte)	42,5%

Exemple PM 2 :

35	- matière active	10%
----	------------------	-----

- | | | |
|---|---|--------------|
| | - alcool synthétique oxo de type ramifié, en C13 éthoxylé par 8 à 10 oxyde d'éthylène (agent mouillant) | 0,75% |
| 5 | - lignosulfonate de calcium neutre (agent dispersant) | 12% |
| | - carbonate de calcium (charge inerte) | q.s.p. 100 % |

Exemple PM 3 :

10 Cette poudre mouillable contient les mêmes ingrédients que dans l'exemple précédent, dans les proportions ci-après :

- | | | |
|----|--|-------------|
| | - matière active | 75% |
| | - agent mouillant | 1,50% |
| | - agent dispersant | 8% |
| 15 | - carbonate de calcium (charge inerte) | q.s.p. 100% |

Exemple PM 4 :

- | | | |
|----|---|-----|
| | - matière active | 90% |
| | - alcool gras éthoxylé (agent mouillant) | 4% |
| 20 | - phényléthylphénol éthoxylé (agent dispersant) | 6% |

Exemple PM 5 :

- | | | |
|----|---|-------|
| | - matière active | 50% |
| | - mélange de tensio-actifs anioniques et non ioniques (agent mouillant) | 2,5% |
| 25 | - lignosulfonate de sodium (agent dispersant) | 5% |
| | - argile kaolinique (support inerte) | 42,5% |

30 Les dispersions et émulsions aqueuses, par exemple les compositions obtenues en diluant à l'aide d'eau une poudre mouillable ou un concentré émulsionnable selon l'invention, sont comprises dans le cadre général de la présente invention. Les émulsions peuvent être du type eau-dans-l'huile ou huile-dans-l'eau et elles peuvent avoir une consistance épaisse comme celle d'une "mayonnaise".

Les compositions antifongiques selon l'invention peuvent être formulées sous la forme de granulés dispersibles dans l'eau également compris dans le cadre de l'invention.

5 Ces granulés dispersibles, de densité apparente généralement comprise entre environ 0,3 et 0,6 ont une dimension de particules généralement comprise entre environ 150 et 2000 et de préférence entre 300 et 1500 microns.

La teneur en matière active de ces granulés est généralement comprise entre environ 1 % et 90 %, et de préférence entre 25 % et 90 %.

10 Le reste du granulé est essentiellement composé d'une charge solide et éventuellement d'adjuvants tensio-actifs conférant au granulé des propriétés de dispersibilité dans l'eau. Ces granulés peuvent être essentiellement de deux types distincts selon que la charge retenue est soluble ou non dans l'eau. Lorsque la charge est hydrosoluble, elle peut être minérale ou, de préférence, organique. On a obtenu d'excellents résultats avec l'urée. Dans le cas d'une charge insoluble, celle-
15 ci est de préférence minérale, comme par exemple le kaolin ou la bentonite. Elle est alors avantageusement accompagnée d'agents tensio-actifs (à raison de 2 à 20 % en poids du granulé) dont plus de la moitié est, par exemple, constituée par au moins un agent dispersant, essentiellement anionique, tel qu'un polynaphtalène sulfonate alcalin ou alcalino terreux ou un lignosulfonate alcalin ou alcalino-
20 terreux, le reste étant constitué par des mouillants non ioniques ou anioniques tel qu'un alcoyl naphtalène sulfonate alcalin ou alcalino-terreux.

Par ailleurs, bien que cela ne soit pas indispensable, on peut ajouter d'autres adjuvants tels que des agents anti-mousse.

25 Le granulé selon l'invention peut être préparé par mélange des ingrédients nécessaires puis granulation selon plusieurs techniques en soi connues (drageoir, lit fluide, atomiseur, extrusion, etc...). On termine généralement par un concassage suivi d'un tamisage à la dimension de particule choisie dans les limites mentionnées ci-dessus. On peut encore utiliser des granulés obtenus comme précédemment puis imprégnés avec une composition contenant la matière active.

30 De préférence, il est obtenu par extrusion, en opérant comme indiqué dans les exemples ci-après.

Exemple GD1 : Granulés dispersibles

35 Dans un mélangeur, on mélange 90 % en poids de matière active et 10 % d'urée en perles. Le mélange est ensuite broyé dans un broyeur à broches.

On obtient une poudre que l'on humidifie avec environ 8 % en poids d'eau. La poudre humide est extrudée dans une extrudeuse à rouleau perforé. On obtient un granulé qui est séché, puis concassé et tamisé, de façon à ne garder respectivement que les granules d'une dimension comprise entre 150 et 2000 microns.

5

Exemple GD2 : Granulés dispersibles

Dans un mélangeur, on mélange les constituants suivants :

- | | |
|---|-----|
| - matière active | 75% |
| - agent mouillant (alkylnaphtalène sulfonate de sodium) | 2% |
| - agent dispersant (polynaphtalène sulfonate de sodium) | 8% |
| - charge inerte insoluble dans l'eau (kaolin) | 15% |

10

Ce mélange est granulé en lit fluide, en présence d'eau, puis séché, concassé et tamisé de manière à obtenir des granules de dimension comprise entre 0,15 et 0,80 mm.

15

Ces granules peuvent être utilisés seuls, en solution ou dispersion dans de l'eau de manière à obtenir la dose cherchée. Ils peuvent aussi être utilisés pour préparer des associations avec d'autres matières actives, notamment antifongiques, ces dernières étant sous la forme de poudres mouillables, ou de granules ou suspensions aqueuses.

20

En ce qui concerne les compositions adaptées au stockage et au transport, elles contiennent plus avantageusement de 0,5 à 95 % (en poids) de matière active.

25

L'invention a pour autre objet un procédé de lutte à titre curatif ou préventif, de préférence préventif, contre les champignons phytopathogènes des cultures et/ou bactéries et/ou virus caractérisé en ce que l'on applique sur les parties aériennes des végétaux une quantité efficace et non phytotoxique d'une combinaison d'un ou plusieurs composés A et d'au moins un composé B, par exemple dans une composition antifongique et/ou antibactérienne et/ou antivirale selon l'invention. Le procédé global peut en outre éventuellement prévoir un traitement supplémentaire à l'aide d'un fongicide connu, ce fongicide étant appliqué simultanément ou séparément des composés A et/ou B.

30

Les champignons phytopathogènes des cultures qui peuvent être combattus par ce procédé sont notamment ceux :

35

- du groupe des oomycètes :

- du genre *Phytophthora* tel que *Phytophthora phaseoli*, *Phytophthora citrophthora*, *Phytophthora capsici*, *Phytophthora cactorum*, *Phytophthora palmivora*, *Phytophthora cinnamoni*, *Phytophthora megasperma*, *Phytophthora parasitica*, *Phytophthora fragariae*, *Phytophthora cryptogea*, *Phytophthora porri*, *Phytophthora nicotianae*, *Phytophthora infestans* (mildiou des solanées, notamment de la pomme de terre ou de la tomate);

- de la famille des Péronosporacées, notamment *Plasmopara viticola* (mildiou de la vigne), *Plasmopara halstedei* (mildiou du tournesol), *Pseudoperonospora* sp (notamment mildiou des cucurbitacées (*Pseudoperonospora cubensis*) et du houblon (*Pseudoperonospora humuli*)), *Bremia lactucae* (mildiou de la laitue), *Peronospora tabacinae* (mildiou du tabac), *Peronospora destructor* (mildiou de l'oignon), *Peronospora parasitica* (mildiou du chou), *Peronospora farinosa* (mildiou des endives et mildiou de la betterave).

- du groupe des adélomycètes (ascomycètes):

- du genre *Alternaria*, par exemple *Alternaria solani* (alternariose des solanées, et notamment de la tomate et des pommes de terre),

- du genre *Guignardia*, notamment *Guignardia bidwellii* (black rot de la vigne),

- du genre *Venturia*, par exemple *Venturia inaequalis*, *Venturia pirina* (tavelures du pommier ou du poirier),

- du genre *Oïdium*, par exemple oïdium de la vigne (*Uncinula necator*) ; oïdium des cultures légumières, par exemple *Erysiphe polygoni* (oïdium des crucifères) ; *Leveillula taurica*, *Erysiphe cichoracearum*, *Sphaerotheca fuliginea* (oïdium des cucurbitacées, des composées, de la tomate) ; *Erysiphe communis* (oïdium de la betterave et du chou) ; *Erysiphe pisi* (oïdium du pois, de la luzerne) ; *Erysiphe polyphaga* (oïdium du haricot et du concombre) ; *Erysiphe umbelliferarum* (oïdium des ombellifères, notamment de la carotte) ; *Sphaerotheca humuli* (oïdium du houblon) ; oïdiums du blé et de l'orge (*Erysiphe graminis forma specie tritici* et *Erysiphe graminis forma specie hordei*),

- du genre *Taphrina*, par exemple *Taphrina deformans* (cloque du pêcher),

- du genre *Septoria*, par exemple *Septoria nodorum* ou *Septoria tritici* (septoriose des céréales),

- du genre *Sclerotinia*, par exemple *Sclerotinia sclerotirium*,

- du genre *Pseudocercospora*, par exemple *P. herpotrichoides* (piétin verse des céréales),
- du genre *Botrytis cinerea* (vigne, culture légumières et maraîchères, pois,.....),
- 5 - du genre *Phomopsis viticola* (excoriose de la vigne),
- du groupe des Basidiomycètes :
 - du genre *Puccinia*, par exemple *Puccinia recondita* ou *striiformis* (rouilles du blé), *Puccinia triticina*, *Puccinia hordei*,
 - de la famille *Rhizoctonia* spp, par exemple *Rhizoctonia solani*.

10

Les maladies d'origine bactérienne et virale qui peuvent être combattues par ce procédé sont notamment :

- le feu bactérien, *Erwinia amylovora* ;
- la tache bactérienne des arbres fruitiers à noyau, *Xanthomonas*
- 15 *campestris* ;
- la bactériose du poirier, *Pseudomonas syringae* ;
- la bactériose du riz et des céréales ;
- les virus présents sur le riz, les cultures légumières et céréalières.

20

Les cultures envisagées dans le cadre de la présente invention sont de préférence les cultures céréalières (blé, orge, maïs, riz) et légumières (haricot, oignon, cucurbitacées, chou, pomme de terre, tomate, poivron, épinard, pois, laitue, céleri, endives), les cultures fruitières (fraisiers, framboisiers), les cultures arboricoles (pommiers, poiriers, cerisiers, ginseng, citronniers, cocotiers,

25 pécaniers, cacaoyers, noyers, hévéas, oliviers, peupliers, bananiers), la vigne, le tournesol, la betterave, le tabac et les cultures ornementales.

30

Un classement fait non plus par champignons ou bactéries visés mais par cultures cibles peut être illustré comme ci-dessous :

- la vigne: oïdium (*Uncinula necator*), mildiou (*Plasmopara viticola*), pourriture (*Botrytis cinerea*), excoriose (*Phomopsis viticola*) et black-rot (*Guignardia bidwellii*),
- les solanées: mildiou (*Phytophthora infestans*), alternariose (*Alternaria solani*) et pourriture (*Botrytis cinerea*),

- les cultures légumières: mildious (*Peronospora* sp., *Bremia lactucae*, *Pseudoperonospora* sp), alternariose (*Alternaria* sp.), sclérotiniose (*Sclerotinia* sp.), pourriture (*Botrytis cinerea*), pourriture du pied ou des racines (*Rhizoctonia* spp.), oïdium (*Erysiphe* sp.; *Sphaerotheca fuliginea*),
- 5 - l'arboriculture: tavelure (*Venturia inaequalis*, *V. pirina*), maladies bactériennes (*erwinia amylovora*, *xanthomonas campestris*, *pseudomonas syringae*), oïdium (*Podosphaera leucotricha*) et moniliose (*Monilia fructigena*),
- les agrumes: tavelure (*Elsinoe fawcetti*), mélanose (*Phomopsis citri*) et maladies à *Phytophthora* sp.,
- 10 - le blé, en ce qui concerne la lutte contre les maladies suivantes des semences : les fusarioses (*Microdochium nivale* et *Fusarium roseum*), les caries (*Tilletia caries*, *Tilletia controversa* ou *Tilletia indica*), la septoriose (*Septoria nodorum*),
- le blé, en ce qui concerne la lutte contre les maladies suivantes des parties aériennes de la plante : le piétin-verse (*Pseudocercospora herpotrichoides*), le piétin-échaudage (*Gaeumannomyces graminis*), la fusariose du pied (*F. culmorum*, *F. graminearum*), le rhizoctone (*Rhizoctonia cerealis*), l'oïdium (*Erysiphe graminis forma specie tritici*), les rouilles (*Puccinia striiformis* et *Puccinia recondita*) et les septorioses (*Septoria tritici* et *Septoria nodorum*),
- 15 - le blé et l'orge , en ce qui concerne la lutte contre les maladies bactériennes et virales, par exemple la jaunisse nanisante de l'orge,
- l'orge, en ce qui concerne la lutte contre les maladies suivantes des semences : les helminthosporioses (*Pyrenophora graminea*, *Bipolaris*, *Pyrenophora teres* et *Cochliobolus sativus*), le charbon nu (*Ustilago nuda*) et les fusarioses (*Microdochium nivale* et *Fusarium roseum*),
- 20 - l'orge, en ce qui concerne la lutte contre les maladies suivantes des parties aériennes de la plante : le piétin-verse (*Pseudocercospora herpotrichoides*), les helminthosporioses (*Pyrenophora teres* et *Cochliobolus sativus*), l'oïdium (*Erysiphe graminis forma specie hordei*), la rouille naine (*Puccinia hordei*) et la rhynchosporiose (*Rhynchosporium secalis*) ;
- 25 - la pomme de terre, en ce qui concerne la lutte contre les maladies du tubercule (notamment *Helminthosporium solani*, *Phoma tuberosa*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*) et certaines viroses (virus Y);
- le coton, en ce qui concerne la lutte contre les maladies suivantes des jeunes plantes issues des semences : les fontes de semis et les nécroses du collet
- 35

(*Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*), la pourriture noire des racines (*Thielaviopsis basicola*),

- le pois, en ce qui concerne la lutte contre les maladies suivantes des semences : l'anthracnose (*Ascochyta pisi*, *Mycosphaerella pinodes*), la fusariose (*Fusarium oxysporum*), la pourriture grise (*Botrytis cinerea*), la rouille (*Uromyces pisi*),

- le colza, en ce qui concerne la lutte contre les maladies suivantes des semences : *Phoma lingam* et *Alternaria brassicae*, la pourriture (*Botrytis cinerea*), et sclérotiniose (*Sclerotinia sclerotirium*),

- le maïs, en ce qui concerne la lutte contre les maladies des semences (*Rhizopus* sp., *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp., *Aspergillus* sp. et *Gibberella fujikuroi*), les helminthosporioses (*Bipolaris*), la fusariose (*Fusarium oxysporum*),

- le riz: pourriture du pied ou des racines (*Rhizoctonia* spp.),

- le lin, en ce qui concerne la lutte contre la maladie des semences (*Alternaria linicola*),

- la banane: cercosporiose (*Mycosphaerella figiensis*),

- le gazon: rouille, oïdium, helminthosporiose, maladies telluriques (*Microdochium nivale*, *Pythium* sp., *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia homeocarpa*...),

- les arbres forestiers, en ce qui concerne la lutte contre les fontes de semis (*Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*).

La composition antifongique et/ou antibactérienne et/ou antivirale de l'invention est appliquée au moyen de différents procédés de traitement tels que :

- la pulvérisation sur les parties aériennes des cultures à traiter d'un liquide comprenant ladite composition,

- le poudrage, l'incorporation au sol de granulés ou de poudres, l'arrosage, l'injection dans les arbres et/ou le badigeonnage (peintures) et/ou l'application sous formes de patchs (pansements), l'incorporation dans des terreaux et/ou solutions nutritives du sol.

La pulvérisation d'un liquide sur les parties aériennes des cultures à traiter est le procédé de traitement préféré.

Par "quantité efficace et non phytotoxique", on entend une quantité de composition selon l'invention suffisante pour permettre le contrôle ou la destruction des champignons ou bactéries présents ou susceptibles d'apparaître sur

les cultures, et n'entraînant pour lesdites cultures aucun symptôme notable de phytotoxicité. Une telle quantité est susceptible de varier dans de larges limites selon le champignon ou la bactérie à combattre, le type de culture, les conditions climatiques, et les composés compris dans la composition antifongique et/ou
5 antibactérienne et/ou antivirale selon l'invention. Cette quantité peut être déterminée par des essais systématiques au champ, à la portée de l'homme du métier.

En dernier lieu, l'invention concerne un produit comprenant au moins un
10 composé A et au moins un composé B pour le contrôle des champignons phytopathogènes et/ou des bactéries et/ou des virus d'un milieu par application simultanée, séquentielle ou séparée.

Les exemples suivants sont donnés à titre purement illustratif de
15 l'invention, qu'ils ne limitent en aucune façon.

Des expérimentations ont été entreprises sur les effets physiologiques induits dans les réponses de défenses dans les cultures cellulaires de tabac par mesure de la production d'enzymes comme la PAL et la LOX et d'acide salicylique et sur les effets de protection antifongique dans le cas des couples
20 oïdium du blé et mildiou de la vigne.

Exemple 1 : Effets physiologiques.

25 1) Le choix des marqueurs biochimiques sur cellules de tabac.

◆ mesure de l'activité PAL (phénylalanine ammoniac-lyase) : enzyme clé de la voie des phényl propanoïdes et plus particulièrement de la lignification impliquée dans les réactions de défense des plantes (chez les monocotylédones tout particulièrement).

30 ◆ mesure de l'acide salicylique : molécule de signalisation.

◆ mesure de l'activité LOX (lipoxygénase) enzyme clé de la synthèse de l'acide jasmonique, autre molécule de signalisation.

35 2) Matériel Végétal.

Les suspensions cellulaires utilisées sont des suspensions de *Nicotiana tabacum* BY (Brigh Yellow) provenant de Washington State University (Pullman, USA). Elles sont cultivées à l'obscurité, 24°C sous agitation (120

rpm) et repiquées tous les 7 jours par transfert de 10 ml de culture dans 70 ml de milieu frais.

La composition du milieu de culture est donnée pour 1 litre:

- Murashige et Skoog salts (Duchefa) 4,3g
- sucrose 30g
- B1(thiamine) 1mg
- inositol 100mg
- KH_2PO_4 1,47 mM

Le pH est ajusté à 5,8.

Les cellules sont prétraitées 5 jours après repiquage (fin de la phase exponentielle de croissance) et élicitées au 6ème jour. Deux heures avant prétraitement, 10 ml de cellules sont transférés dans des erlenmeyers de 25ml. Pour les analyses des activités phénylalanine ammoniac-lyase (PAL), lipoxigénase (LOX) et la détermination de l'acide salicylique (SA), les cellules sont récoltées au temps voulu par filtration sur papier Wathman 3M, congelées dans l'azote liquide et conservées à -80°C jusqu'à l'analyse.

3) Activité Phénylalanine ammoniac-lyase (PAL).

Les cellules (0,5g) sont broyées dans du tampon borate 0,1M pH 8,8 en présence de charbon actif et de quartz. Le rapport de broyage est de 1/5 (p/v). Après centrifugation, 100 μl d'extrait cellulaire sont mis à incuber 1h à 37°C en présence de 200 μl de tampon borate 0,1M pH 8,8 et de 100 μl d'un mélange tampon borate 0,1M pH 8,8, L-phénylalanine 300 μM (mélange marquée et froide), la solution finale présente une activité spécifique de 810.000cpm/ml.

La réaction est arrêtée par l'ajout de quelques gouttes de H_2SO_4 9N. On rajoute 2ml d' H_2O . Les produits de la réaction sont extraits en ajoutant 2ml d'un mélange éther/cyclohexane (1/1, v/v). La phénylalanine n'étant pas soluble dans ce mélange, le comptage de la réaction est fait sur 1ml en présence de liquide de scintillation 'multi-purpose'.

4) Activité Lipoxigénase (LOX).

Les cellules (250mg) sont broyées dans 0,5 ml de tampon d'extraction en présence de quartz.

- Tp d'extraction :
- Tp tris 0,1M Ph 6,8
 - PVP 1% p/v
 - $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ 0,04%
 - PMSF 0,5mM
 - EDTA 3mM
 - Triton 0,1% v/v

Le broyat est centrifugé 15min à 4°C à 13000 rpm. 2,87ml de tampon Tris 0,1M pH 6,8 puis 30 μl d'acide linoléique 10mM sont ajoutés à l'extrait cellulaire. Après agitation, on suit l'évolution de la DO à 234 nm.

5) Extraction et dosage de l'acide salicylique (AS).

Les échantillons (0,5 g) de cellules ou de feuilles de tabac sont broyés dans de l'azote liquide, puis le broyage est poursuivi en présence 0,8 ml de méthanol 90%. Une quantité connue d'AS marqué au ^{14}C (1 nCi, 54 mCi/mole, Sigma) est alors ajoutée afin d'estimer le rendement de récupération de l'AS endogène. La quantité d'AS marqué ajoutée est inférieure au seuil de détection de l'analyse. Les extraits méthanoliques sont agités vigoureusement et centrifugés pendant 20 min à 13000 rpm. Le surnageant est récupéré et le culot est soumis à une seconde extraction par du méthanol 100%. Après centrifugation, les deux surnageants sont rassemblés. Les échantillons sont ensuite évaporés à sec au concentrateur sous vide. Les extraits secs sont repris dans 0,5 ml d'eau à 80°C.

Les échantillons sont amenés à pH 2 par l'ajout d'HCl 2 M, puis chauffés à 80°C pendant une heure. Par la suite, les échantillons sont soumis à deux extractions successives par 2 volumes d'éther. Après extraction, les phases éthérées sont rassemblées et l'éther est évaporé sous un flux d'azote. Les résidus secs sont dissous dans environ 150 μl de tampon de charge (acétate de sodium 20 mM pH 5 ; acétonitrile, dans les proportions 9 : 1 (v/v)). 20 ml auxquels sont ajoutés 3 ml de liquide de scintillation (Ready Gel, Beckmann) sont prélevés pour le comptage de la radioactivité résiduelle qui permet le calcul du rendement de récupération de l'AS. Les teneurs en AS total déterminées correspondent à la somme des teneurs en AS sous forme libre et des teneurs en AS sous forme conjuguée, l'AS étant relargué au cours de l'hydrolyse.

Analyse quantitative par CLHP

50 μl des échantillons repris dans le tampon de charge sont injectés sur une colonne C18 phase inverse (Nova pak waters, 3,9x150 mm) équilibrée dans le mélange tampon acétate de Na (20 mM, pH 5) 97% / acétonitrile 3% sous un débit de 1ml/min. L'élution est programmée sur un système CLHP Waters dans un système isocratique pendant 10 min. La proportion d'acétonitrile augmente ensuite jusqu'à 80% durant 2 min, cette proportion est maintenue pendant 10 min, ce qui permet le lavage de la colonne qui est ensuite rééquilibrée dans le mélange de départ durant 5 minutes, avant une nouvelle injection. L'AS est quantifié par fluorimétrie (λ excitation=315 nm, λ émission=405 nm). Le pic correspondant à cette molécule est identifié par comparaison du temps de rétention avec celui de l'AS de référence (50 ng). Les quantités d'AS injectées sont calculées grâce à la comparaison de l'aire des pics correspondant à l'AS avec celle de la molécule standard injectée. Les teneurs en AS dans les échantillons sont ensuite calculées en tenant compte du rendement de récupération.

6) Cinétique de traitement.

Dans tous les cas, le prétraitement avec le potentialisateur est réalisé 18 heures avant le traitement éliciteur.

5 Les prélèvements pour analyse des effets physiologiques ont lieu 4 heures, 12 heures ou 24 heures après élicitation. Les témoins correspondant à une potentialisation seule ou une élicitation seule sont systématiquement présents pour chaque prélèvement.

10 **Résultats** : on se reportera aux figures 1 à 9 en fin de descriptions, figures pour lesquelles les commentaires suivants sont donnés :

Figure 1. Influence du conditionnement des cultures cellulaires de tabac par H₃PO₃ sur l'induction de l'activité PAL après élicitation par un éliciteur oligosaccharidique isolé de Pmg.

20 Les cultures cellulaires ont été conditionnées (prétraitement) par 5mM de H₃PO₃ pendant 18h et induites par 10µg/ml d'éliciteur oligosaccharidique de type β-glucane. L'élicitation entraîne par elle-même une augmentation transitoire de l'activité PAL qui retourne à son niveau initial 8h après l'application de l'éliciteur. Un prétraitement des cellules par H₃PO₃ (5mM) amplifie nettement la réponse à l'éliciteur (élicitabilité) et augmente la durabilité du phénomène.

25 **Figure 2.** Influence de H₃PO₃ sur l'activité lipoxgénase (LOX) de cultures cellulaires de tabac après induction par un éliciteur oligosaccharidique isolé de Pmg.

30 L'activité LOX a été mesurée 21h après l'élicitation par 10µg/ml d'éliciteur oligosaccharidique de type β-glucane. L'effet du prétraitement des cellules par H₃PO₃, sur l'élicitabilité cellulaire est important puisqu'il permet d'induire une activité LOX environ 4 fois supérieure au témoin correspondant. Un léger effet inducteur de l'activité LOX est observable 39h (18h de prétraitement+21h) après l'application de H₃PO₃ seul.

35 **Figure 3.** Influence du conditionnement des cultures cellulaires de tabac par H₃PO₃ sur l'induction de l'activité PAL après élicitation par des oligomères de pectine.

Les cultures cellulaires ont été conditionnées par 5mM de H₃PO₃ pendant 18h et élicitées par 20 µg/ml d'oligomères de pectine. Le traitement des cellules par l'éliciteur entraîne une augmentation transitoire de l'activité PAL qui retourne à son niveau initial 8h après élicitation. Le conditionnement des cellules par H₃PO₃ provoque après élicitation une forte stimulation de l'activité PAL qui se maintient à un niveau élevé pendant toute la durée de l'expérimentation. Aucun effet significatif d'induction de l'activité PAL n'est détectable après l'application de H₃PO₃ seul.

Figure 4. Accumulation d'AS dans des cultures cellulaires de tabac préconditionnées ou non par H₃PO₃ et élicitées par des oligomères de pectine.

L'AS s'accumule très transitoirement et faiblement en réponse à l'élicitation par 20 µg/ml d'oligomères de pectine. Le conditionnement des cellules par H₃PO₃, 18h avant l'élicitation, entraîne une importante augmentation du taux de synthèse d'AS par rapport aux cellules non conditionnées.

Figure 5. Influence du conditionnement des cultures cellulaires de tabac par H₃PO₃ et le fosétyl-Na sur l'induction de l'activité PAL après élicitation par des oligomères de pectine.

Les cultures cellulaires ont été conditionnées par 5mM de H₃PO₃ ou de fosétyl-Na pendant 18h et élicitées par 20 µg/ml d'oligomères de pectine. Le traitement des cellules par l'éliciteur entraîne une augmentation transitoire de l'activité PAL qui retourne à son niveau initial 11h après élicitation. Le conditionnement des cellules par H₃PO₃ provoque après élicitation une stimulation de l'activité PAL supérieure à celle observée dans les cellules non-conditionnées. Le fosétyl-Na maintient l'activité PAL à un niveau élevé 11h après l'élicitation (effet de durabilité). Aucun effet significatif d'induction de l'activité PAL n'est détectable après l'application de fosétyl-Na seul.

Figure 6. Influence du conditionnement des cultures cellulaires de tabac par H₃PO₃ sur l'induction de l'activité PAL après élicitation par 2nM de β-mégaspermène.

Les cultures cellulaires ont été conditionnées par 5mM de H₃PO₃ pendant 18h et élicitées par 2nM de β -mégaspermine. L'application de l'éliciteur seul, entraîne une augmentation de l'activité PAL qui se stabilise 8h après l'élicitation. L'activité PAL des cellules prétraitées par H₃PO₃ augmente linéairement après élicitation pour atteindre 4 fois le niveau des cellules non-conditionnées.

Figure 7. Influence de H₃PO₃ sur l'activité lipoxgénase (LOX) de cultures cellulaires de tabac après induction par 2nM de β -mégaspermine.

L'activité LOX a été mesurée 12h après l'élicitation par 2nM de β -mégaspermine. L'effet du prétraitement des cellules (18h) par H₃PO₃, sur l'élicitabilité cellulaire est très important puisqu'il permet d'induire une activité LOX environ 28 fois supérieure au témoin correspondant. Aucun effet inducteur de l'activité LOX n'est observable 30h (18h de prétraitement+12h) après l'application de H₃PO₃ seul.

Figure 8. Accumulation d'AS dans des cultures cellulaires de tabac préconditionnées ou non par H₃PO₃ et élicitées par 5nM de β -mégaspermine.

L'AS s'accumule transitoirement en réponse à l'élicitation par 5nM de β -mégaspermine. Le conditionnement des cellules par H₃PO₃, 18h avant l'élicitation, entraîne une importante augmentation du taux de synthèse d'AS par rapport aux cellules non conditionnées et une persistance de l'effet.

Figure 9. Influence du conditionnement des cultures cellulaires de tabac par H₃PO₃ et le fosétyl-Na sur l'induction de l'activité PAL après élicitation par 2nM de β -mégaspermine..

Les cultures cellulaires ont été conditionnées pendant 18h par 5mM de H₃PO₃ ou de fosétyl-Na, et élicitées par 2nM de β -mégaspermine. L'élicitation seule entraîne une augmentation de l'activité PAL qui se stabilise 8h après l'application de l'éliciteur. L'activité PAL de cellules prétraitées par H₃PO₃ ou par le fosétyl-Na est toujours supérieure à celle observées dans les cellules non-conditionnées.

Conclusion : Ces expérimentations démontrent l'effet potentialisateur de H₃PO₃ et du fosétyl-Na sur les réponses de défense du tabac. H₃PO₃ et le fosétyl-Na n'ont par eux-mêmes aucun effet sur l'activité de la PAL, de la LOX ou sur la synthèse d'AS. Le conditionnement sensibilise les cultures cellulaires à répondre à des concentrations faibles en éliciteurs ou augmente la sensibilité des cellules aux éliciteurs.

Exemple 2 : **Protection antifongique.**

1) Oidium /blé (*Erysiphe graminis* f.sp.*tritici*):

Des blés de la variété Victo (commercialisée par la firme Pionner génétique) sont cultivés en chambre froide à 10°C avec une taux d'HR de 90% et soumis à une photopériode de 12H.

Les plants âgés de trois semaines environ (stade 2 feuilles bien développées) sont conditionnés une journée avant traitement dans une serre à 20°C et arrosés.

Les produits sont appliqués soit en séquence soit en mélange.

On prépare à partir des différents composés par dilution dans l'eau les suspensions diluées correspondant à un volume de pulvérisation de 250 litres de liquide de pulvérisation par hectare.

Le potentialisateur est appliqué 24h ou 48 h avant l'éliciteur, dans le cas d'un traitement séquentiel.

La contamination a lieu 2 jours , 4 jours ou 5 jours après le traitement par l'éliciteur. Elle est assurée par balayage des plants par des plants de blé préalablement contaminées la semaine précédente et qui présentent un feutrage conidien pulvérulent (pathogène obligatoire qui ne supporte pas l'eau libre pour s'installer).

Après cette contamination, les plants de blé sont placés en incubation pendant 7 jours à 20°C dans une atmosphère de 85% HR

2) Mildiou de la vigne (*Plasmopara viticola*)

Des boutures de vigne (*Vitis vinifera*), variété Chardonnay, sont cultivés dans des godets en serre. Lorsque ces plants sont âgés de 2 mois (stade 4-5 feuilles), ils sont placés en subirrigation durant une semaine avant traitement dans une serre à 20°C afin d'éviter tout effet de stress.

Les produits sont appliqués soit en séquence soit en mélange.

On prépare à partir des différents composés par dilution dans l'eau les suspensions diluées correspondant à un volume de pulvérisation de 500 litres de liquide de pulvérisation par hectare. .

Le potentialisateur est appliqué 6 jours avant l'éliciteur, dans le cas d'un traitement séquentiel.

La contamination a lieu 6 jours après le traitement par l'éliciteur. Elle est assurée par pulvérisation d'une suspension aqueuse de spores de *Plasmopara*

viticola obtenue à partir de feuilles sporulées contaminées 7 jours auparavant. Ces spores sont mises en suspension à raison de 100000 unités par cm³.

Les plants contaminés sont ensuite mis en incubation pendant 7 jours en atmosphère humide de type brouillard à 18-20°C

La lecture a lieu 7 jours après la contamination, en comparaison avec des plants témoins, non traités mais contaminés. On estime de façon visuelle la surface des feuilles présentant sous leur face inférieure un duvet blanchâtre correspondant à la sporulation du champignon.

On calcule à partir du taux de surface foliaire sporulée et au moyen de la formule d'Abbott l'efficacité du produit ou des produits de traitement établie sur trois feuilles par plant et trois plants par facteur d'essai.

Résultats : on se reportera aux figures 10 à 20 en fin de descriptions, figures pour lesquelles les commentaires suivants sont donnés :

Figure 10. Influence du conditionnement de plants de blé par le fosétyl Al appliqué à 1kg/ha (Aliette WG 80%) sur le développement de l'oidium après induction par un éliciteur de type carbohydrate Elexa™ à 1% dans la bouillie d'application adjuvantée avec le mouillant R56 à 0,1%.

L'analyse de Colby démontre un effet synergique entre le fosétyl Al et Elexa™ adjuvanté de R56 dans les conditions de l'essai, contre l'oidium du blé (*Erysiphe graminis* f.sp. *tritici*).

	fosétyl Al (1kg/ha) X Elexa™ 1% + R56 0,1%
% efficacité observée	72
Colby théorique	50,3
synergie	

Figure 11. Effet synergique entre le fosétyl Al appliqué à 1kg/ha ou H2PHO3 appliqué à 1 ou 2kg/ha et le produit Elexa™ appliqué en tant qu'éliciteur à 0,1% adjuvanté de 0,1% de R56 dans la bouillie d'application vis à vis de l'oidium du blé.

Dans cet essai, la lecture des symptômes a été réalisée sur les premières, deuxièmes et troisièmes feuilles de 24 plants de blé repartis dans trois pots ; 48 heures ont séparé l'application du potentialisateur (fosétyl Al ou H2PHO3) et l'application de l'éliciteur Elexa™ à 0,1% additionné de R56 à 0,1%.

	fosétyl Al (1kg/ha) X Elexa™ 0,1% + R56 0,1%	H2PHO3 (1kg/ha) X Elexa™ 0,1% + R56 0,1%	H2PHO3 (2kg/ha) X Elexa™ 0,1% + R56 0,1%
% efficacité observée	21	32	37

Colby théorique	20,7	20,7	20,7
synergie	+	+	+

Figure 12. Influence potentialisatrice du fosétyl Al à 1 ou 2 kg/ha après élicitation avec Elexa™ à 0,1% adjuvanté avec 0,1% de R56 dans la bouillie d'application contre le mildiou de la vigne.

Dans deux essais indépendants, on note une synergie selon Colby de la combinaison fosétyl Al X Elexa™ 0,1% (+ R56 à 0,1%).

	fosétyl Al (1kg/ha) X Elexa™ 0,1% + R56 0,1% (1°essai)	fosétyl Al (2kg/ha) X Elexa™ 0,1% + R56 0,1% (2°essai)
% efficacité observée	94	56
Colby théorique	57,4	0
synergie	+	+

Figure 13. Influence du fosétyl Al (fos1 à 1kg/ha) sur la protection antioïdium du blé après induction par un éliciteur de type extrait de levure à 1g/l (yeast 1E).

Une synergie selon Colby est mise en évidence pour l'association fosétyl Al - extrait de levure contre l'oidium du blé.

	fosétyl Al (1Kg/ha) X extrait de levure 1g /l (yeast extract Difco™)
% efficacité observée	50
Colby théorique	38,4
synergie	+

Figure 14. Influence d'un conditionnement de plants de blé par le fosétyl Al ou l'acide phosphoreux (H2PHO3) sur l'oidium du blé après élicitation par un éliciteur de type spores tuées ou non d'un champignon non hôte (*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*) responsable de l'oidium de l'orge.

	fosétyl Al (1kg/ha) X <i>Erysiphe graminis</i> f.sp. <i>hordei</i>	H2PHO3 (1kg/ha) X <i>Erysiphe graminis</i> f.sp. <i>hordei</i>
% efficacité observée	71	79
Colby théorique	43	40,5
synergie	+	+

Une synergie selon Colby est démontrée dans les deux cas où le potentialisateur est soit le fosétyl Al soit l'H₂PHO₃ et l'éliciteur des spores d'un champignon non hôte sur le blé.

5

Figure 15. Influence de H₂PHO₃ (1kg/ha) sur la protection antioidium de plants de blé après induction par un éliciteur oligosaccharidique comme le tréhalose à 15g/l (Prolabo).

	H ₂ PHO ₃ (1kg/ha) X tréhalose 15g/l (Prolabo)
% efficacité observée	18
Colby théorique	0
synergie	+

10

Un effet synergique selon Colby est observé en associant l'effet potentialisateur de l'acide phosphoreux et éliciteur du tréhalose vis à vis de l'oïdium du blé.

15

Figure 16. Influence du fosétyl Al (2kg/ha) sur le mildiou de la vigne après induction par un éliciteur oligosaccharidique , le tréhalose à 15g/l (Prolabo).

	fosétyl Al (2kg/ha) X tréhalose 15g/l (Prolabo)
% efficacité observée	11
Colby théorique	0
synergie	+

20

Un effet synergique selon Colby est observé en associant l'effet potentialisateur du fosétyl Al et éliciteur du tréhalose vis à vis du mildiou de la vigne.

25

Figure 17. Influence du fosétyl Al (1 ou 2 kg/ha) ou de H₂PHO₃ (1 ou 2 kg/ha) sur l'oidium du blé après induction par l'acide salicylique appliqué à 1g/l 48 heures après le potentialisateur et 4 jours avant la contamination.

	fosétyl Al (1kg/ha) X Ester AS (1g/l)	fosétyl Al (2kg/ha) X Ester AS (1g/l)	H ₂ PHO ₃ (1kg/ha) X Ester AS (1g/l)	H ₂ PHO ₃ (2kg/ha) X Ester AS (1g/l)
% efficacité observée	47	53	37	53
Colby théorique	25,2	37,8	25,2	25,2
synergie	+	+	+	+

Le fosétyl Al ou l'H₂PHO₃ amplifient de façon synergique, l'effet éliciteur de l'acide salicylique.

Figure 18. Influence de H2PHO3 (1 kg/ha) ou du fosétyl Al (1 ou 2 kg/ha) sur l'oidium du blé après induction par un éliciteur de type Bion™ (BTH) appliqué à la dose de 30g/ha 48 heures après le potentialisateur et 48 heures ou 4 ou 5 jours avant la contamination.

	1°essai	2° essai						
combinaison	H2PHO3 (1kg/ha) X BTH	fosétyl Al (1kg/ha) X BTH		fosétyl Al (2kg/ha) X BTH		H2PHO3 (1kg/ha) X BTH		H2PHO3 (2kg/ha) X BTH
délai élic/cont	4 jours	48 h	5 jours	48 h	5 jours	48 h	5 jours	48 h
%efficacité observée	63	75	79	79	84	71	84	93
Colby théorique	34	29	53,4	52,4	53,4	36,1	65,7	36,5
synergie	+	+	+	+	+	+	+	+

Une synergie selon Colby est observée pour les différentes combinaisons où le fosétyl Al ou H2PHO3 sont associés au bion™ vis à vis de l'oidium du blé.

Figure 19. Influence du fosétyl Al (2 kg/ha) sur le mildiou de la vigne associé à un éliciteur de type bion™ (BTH à 30 g /ha).

	fosétyl Al (2 kg/ha) X bion™ 30 g/ha
% efficacité observée	70
Colby théorique	54
synergie	+

Un effet synergique selon Colby est observé en associant l'effet potentialisateur du fosétyl Al et éliciteur du bion™ vis à vis du mildiou de la vigne.

Figure 20. Influence d'Elexa™ (ici potentialisateur) à 0,1 % adjuvanté de R56 à 0,1 % dans la bouillie d'application sur l'oidium du blé associé à un traitement par un éliciteur de type bion™ (BTH à 30 g /ha) ou ester d'acide salicylique (à 1 g/l).

Dans le 1° essai, 4 jours séparent le traitement éliciteur et la contamination alors que dans le 2° essai, le délai entre éliciteur et contamination est soit de 48 heures soit de 5 jours. Dans les deux cas, 48 heures séparent les traitements potentialisateur et éliciteur.

combinaison	Elexa™ 0,1% X BTH	Elexa™ 0,1% X ester AS	Elexa™ 0,1% X BTH	
délai élic/cont	4 j (essai 1)	4 j (essai 1)	48h (essai 2a)	5 j (essai 2b)
% efficacité observée	53	42	64	89
Colby théorique	41,5	24,5	42,5	54,4
synergie	+	+	+	+

On observe dans chaque cas un effet synergique selon Colby. Dans tous les cas, l'Elexa™ amplifie la réponse élicitrice du BTH ou de l'acide salicylique.

5

Conclusions : Des effets synergiques selon Colby ont été mis en évidence entre le fosétyl-Al et ses dérivés et différentes catégories d'éliciteurs pouvant être des polysaccharides (Elexa™), des sucres simples (tréhalose), des composés comme l'acide salicylique et/ou ses esters, du Bion™ (BTH) ou des spores de champignons non hôtes (*Erysiphe graminis hordei*) dans les tests biologiques réalisés sur blé et vigne. De même, des effets synergiques ont été mis en évidence entre Elexa™ et des éliciteurs comme le Bion™ ou l'acide salicylique et/ou ses esters.

10

15

Ces exemples viennent compléter et corrélérer les effets physiologiques révélés sur cellules de tabac. On a également montré, dans le cas du tabac, une potentialisation par le Bion™ (BTH) lors d'une élicitation par un oligomère de pectine (cf. Figure 21).

20

Exemple 3 : Test en plein champ sur oïdium (*erysiphe cichoracerum*) du melon (cucumis melo, variété rochet) par traitement foliaire.

25

L'association fosétyl + extrait d'algues contribue à une **large diminution de l'attaque** significative par rapport à l'emploi des produits seuls appliqués aux mêmes doses comme le montrent les résultats dans le tableau ci-dessous.

30

Le fongicide utilisé est le fosétyl-al (WG appliqué à 1,25kg/ha soit 1000g/ha de matière active) et l'extrait d'algues (solution LC, 1l/ha) est Agrimer 540 de la société Agrimer.

Tous ces produits sont utilisés à une dose de 1000g/ha et on détermine 15 jours après deux traitements T1 et T2 (faits à 7 jours d'intervalle) le pourcentage de plants atteints par la maladie.

	% à T1+15 jours	% à T2+15 jours
Témoin non traité	91,7	95,0
fosétyl-al	80,0	80,0
Agrimer 540	85,0	86,7
fosétyl-al + Agrimer 540	48,3	48,3

5

Exemple 4 : Test en plein champ sur oïdium (*erysiphe graminis*) du blé (*triticum aestivum*, variété winter) par traitement foliaire.

L'association fosétyl + extrait d'algues contribue à une **diminution de l'attaque** significative par rapport à l'emploi des produits seuls appliqués aux mêmes doses comme le montrent les résultats dans le tableau ci-dessous.

Le fongicide utilisé est le fosétyl-al (WG appliqué à 1,25kg/ha soit 1000g/ha de matière active) et l'extrait d'algues (solution LC, 1l/ha) est Agrimer 540 de la société Agrimer.

15

Tous ces produits sont utilisés à une dose de 1000g/ha et on détermine le pourcentage de plants atteints (% de feuilles détruites) par la maladie, d'une part sur un étage foliaire traité en semi curatif (lecture faite 22 jours après traitement T) et d'autre part sur un étage foliaire traité en curatif (lecture faite 27 jours après traitement T).

20

	(% de feuilles détruites à T+22, semi curatif)	(% de feuilles détruites à T+27, curatif)
Témoin non traité	91,1	100
fosétyl-al	77,8	100
Agrimer 540	77,8	100
fosétyl-al + Agrimer 540	71,1	93,3

REVENDICATIONS

1. Utilisation d'un ou plusieurs dérivé antifongique et/ou antibactérien et/ou antiviral B comme amplificateur (potentialisateur) des réponses physiologiques des plantes obtenues après application d'un ou plusieurs éliciteur A.
2. Utilisation selon 1 caractérisée en ce que le composé éliciteur A est choisi dans la liste comprenant des protéines, des oligosaccharides (de préférence le tréhalose), des polysaccharides (de préférence le produit Elexa™), des lipides, des glycolipides, des glycoprotéines, des peptides, des extraits de parois issus de matériel végétal et/ou de champignons, des champignons, le Bion™ et/ou l'un de ses analogues, des extraits de levure, de l'acide salicylique et/ou l'un ou plusieurs de ses esters, un ou plusieurs extrait d'algues, de préférence choisis dans le groupe comprenant Agrimer 540, CAL, Agrotonic, Laminaria sp. (*Laminaria digitalis*, *Laminaria saccharina*, *Laminaria hyperborea*), Ascophyllum sp. (*Ascophyllum nodosum*), Himanthalla sp. (*Himanthalla elongata*), Undaria sp. (*Undaria pinnatifida*), Fucus sp. (*Fucus vesiculum*), Ulva sp., Chondrus sp., Enteromorpha sp.
3. Utilisation selon 1 ou 2 caractérisée en ce que le composé potentialisateur B est choisi dans la liste comprenant les dérivés de l'acide phosphoreux comme les phosphites métalliques tel que le fosétyl-Al, le fosétyl-Na, l'acide phosphoreux et ses sels alcalins ou alcalino-terreux, le Bion™ et/ou l'un de ses analogues, le produit Elexa™, l'acide isonicotinique, l'acide aminobutyrique, le jasmonate de méthyle.
4. Utilisation selon 3 caractérisée en ce que B est l'acide phosphoreux et/ou de l'un de ses dérivés.
5. Utilisation selon 3 caractérisée en ce que B est l'acide phosphoreux ou du fosétyl-Na ou du Bion™.
6. Utilisation selon 5 caractérisée en ce que A est i) un oligosaccharide de type β -glucane isolé de parois de *Phytophthora megasperma* (Pmg), ii) un oligomère de pectine, ou iii) la β -mégaspermine.

7. Utilisation selon 3 caractérisée en ce que B est l'acide phosphoreux ou du fosétyl-Al ou de l'Elexa™.

8. Utilisation selon 7 caractérisée en ce que A est de l'Elexa™, du Bion™, de l'acide salicylique et/ou un ou plusieurs de ses esters, un extrait de levure, du tréhalose, des spores d'un champignon non hôte.

9. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes caractérisée en ce qu'elle peut être éventuellement complétée par un traitement fongicide classique à l'aide d'un fongicide connu, ce traitement pouvant avoir lieu simultanément ou séparément des applications de A et/ou B.

10. Composition antifongique et/ou antibactérienne et/ou antivirale synergique comprenant comme composé A un ou plusieurs éliciteur d'origine et de nature diverse tel que défini aux revendications 1 à 8, et au moins un composé antifongique B choisi dans le groupe comprenant les dérivés de l'acide phosphoreux, comme les phosphites métalliques tel que le fosétyl-Al ou le fosétyl-Na, l'acide phosphoreux et/ou ses sels alcalins ou alcalino-terreux, et/ou un ou plusieurs composés éliciteur doué également de propriété potentialisatrice.

11. Composition selon la revendication 10 dans laquelle B est le fosétyl Al.

12. Composition selon les revendications 10 et 11 particulièrement adaptée pour les cultures monocotylédones, comme en particulier le blé, le riz, l'orge, et dicotylédones, comme en particulier la vigne ou les solanées.

13. Composition selon l'une des revendications 10 à 12 pouvant contenir aussi d'autres fongicides connus.

14. Procédé de lutte à titre curatif ou préventif, de préférence préventif, contre les champignons phytopathogènes des cultures et/ou contre les bactéries et/ou contre les virus caractérisé en ce que l'on applique sur les parties aériennes des végétaux une quantité efficace et non phytotoxique d'une combinaison d'un ou plusieurs composé A et d'au moins un composé B, A et B étant tels que définis aux revendications 1 à 8.

5 15. Procédé de lutte à titre curatif ou préventif, de préférence préventif, contre les champignons phytopathogènes des cultures et/ou contre les bactéries et/ou contre les virus caractérisé en ce que l'on applique sur les parties aériennes des végétaux une quantité efficace et non phytotoxique d'une composition selon l'une des revendications 10 à 13.

10 16. Procédé selon 14 ou 15 caractérisé en ce qu'un traitement supplémentaire à l'aide d'un fongicide connu, ce fongicide étant appliqué simultanément ou séparément des composés A et/ou B, est réalisé.

15 17. Procédé selon l'une des revendications 14 à 16 caractérisé en ce que l'on traite les cultures céréalières (blé, orge, maïs, riz) et légumières (haricot, oignon, cucurbitacées, chou, pomme de terre, tomate, poivron, épinard, pois, laitue, céleri, endives), les cultures fruitières (fraisiers, framboisiers), les cultures arboricoles (pommiers, poiriers, cerisiers, ginseng, citronniers, cocotiers, pécaniers, cacaoyers, noyers, hévéas, oliviers, peupliers, bananiers), la vigne, le tournesol, la betterave, le tabac ou les cultures ornementales.

20 18. Produit comprenant au moins un composé A et au moins un composé B pour le contrôle des champignons phytopathogènes et/ou des bactéries et/ou des virus par application simultanée, séquentielle ou séparée, A et B étant tels que définis aux revendications 1 à 8.

25 19. Composition antifongique et/ou antibactérienne et/ou antivirale selon l'une des revendications 10 à 13 appliquée au moyen de différents procédés de traitement tels que :

- la pulvérisation sur les parties aériennes des cultures à traiter d'un liquide comprenant ladite composition,
- le poudrage, l'incorporation au sol de granulés ou de poudres, l'arrosage,
- 30 l'injection dans les arbres et/ou le badigeonnage (peintures) et/ou l'application sous formes de patchs (pansements), l'incorporation dans des terreaux et/ou solutions nutritives du sol.

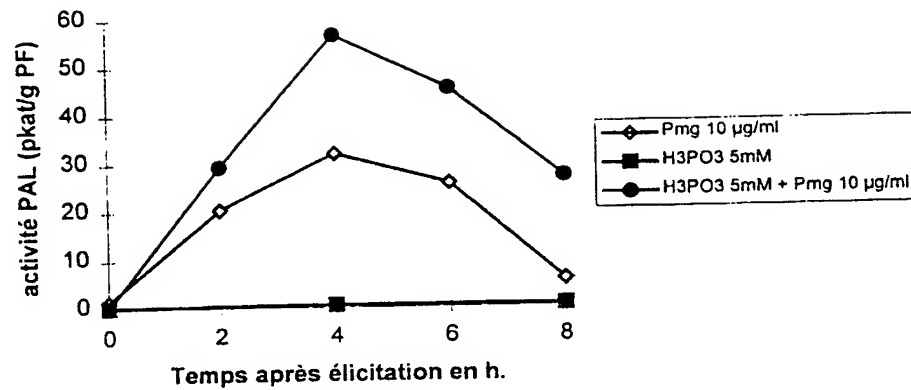


Figure 1. Influence du conditionnement des cultures cellulaires de tabac par H3PO3 sur l'induction de l'activité PAL après élicitation par un éliciteur oligosaccharidique isolé de Pmg.

5

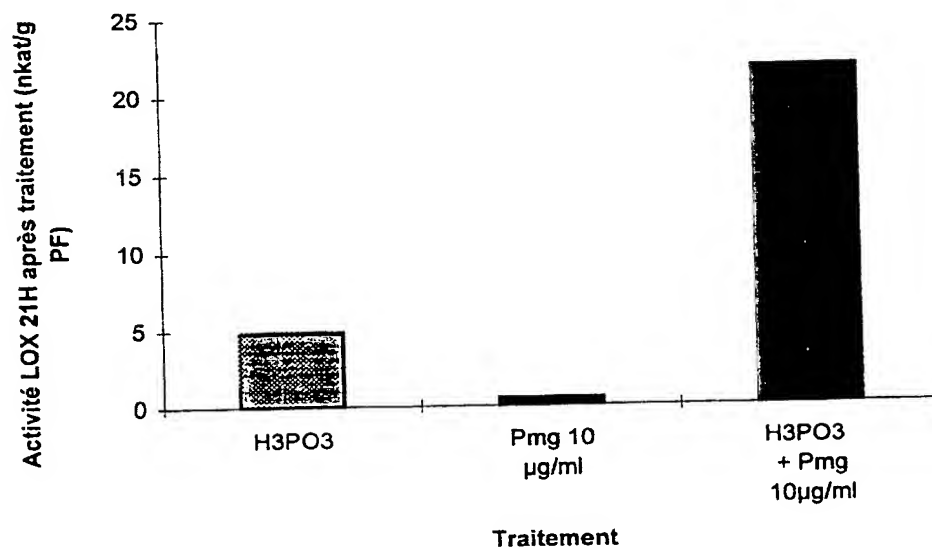


Figure 2. Influence de H3PO3 sur l'activité lipoxygénase (LOX) de cultures cellulaires de tabac après induction par un éliciteur oligosaccharidique isolé de Pmg.

10

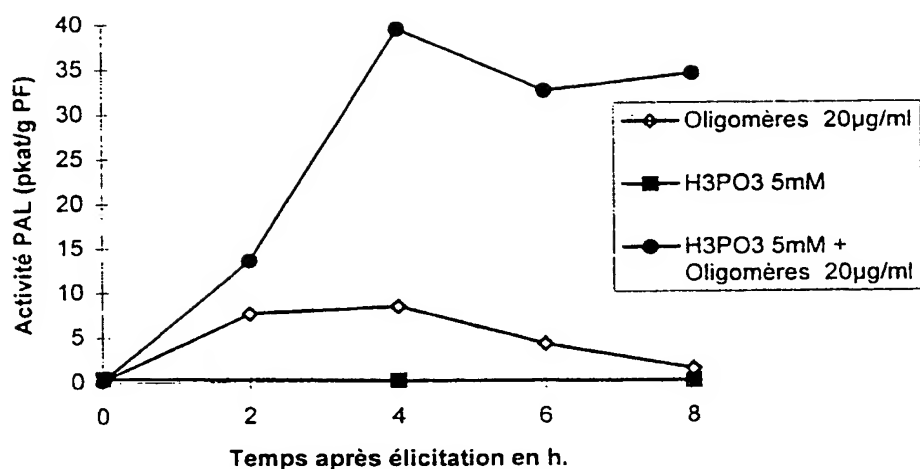


Figure 3. Influence du conditionnement des cultures cellulaires de tabac par H3PO3 sur l'induction de l'activité PAL après élicitation par des oligomères de pectine à 20µg/ml.

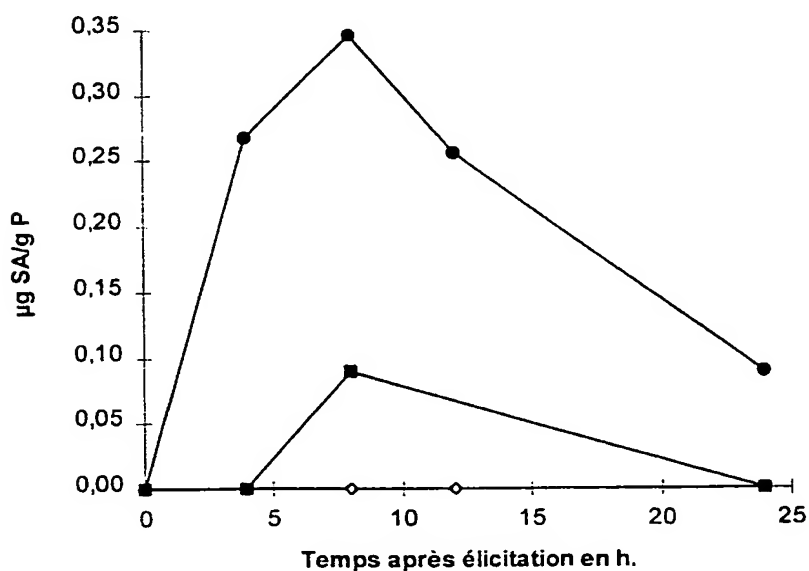


Figure 4 (même légende que pour la figure 3). Accumulation d'AS dans des cultures cellulaires de tabac préconditionnées ou non par H3PO3 et élicitées par des oligomères de pectine.

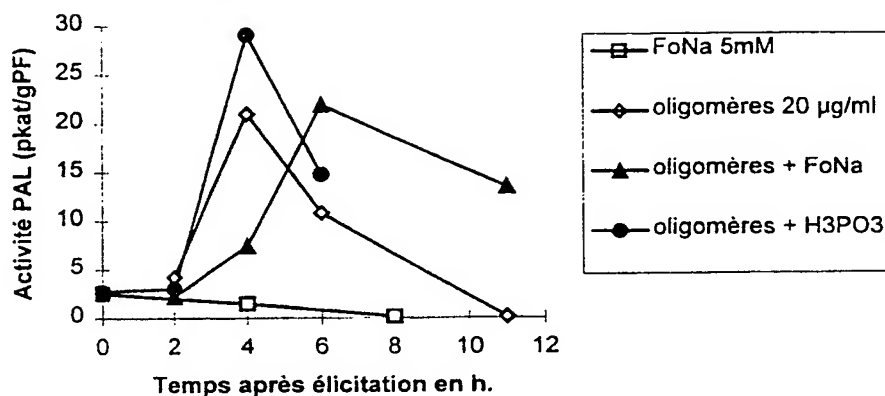


Figure 5. Influence du conditionnement des cultures cellulaires de tabac par H3PO3 et le fosétyl-Na sur l'induction de l'activité PAL après élicitation par des oligomères de pectine.

5

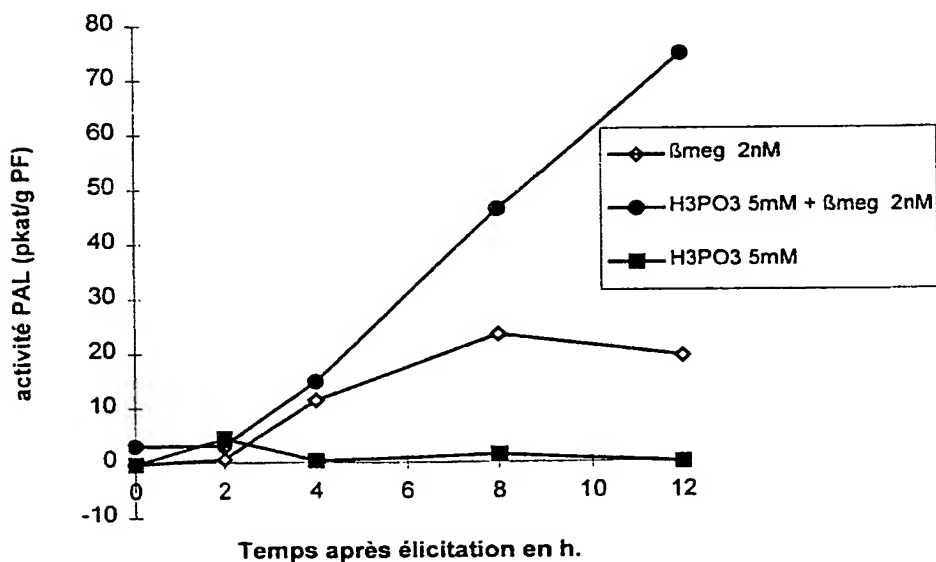


Figure 6. Influence du conditionnement des cultures cellulaires de tabac par H3PO3 sur l'induction de l'activité PAL après élicitation par 2nM de β-mégaspermine.

10

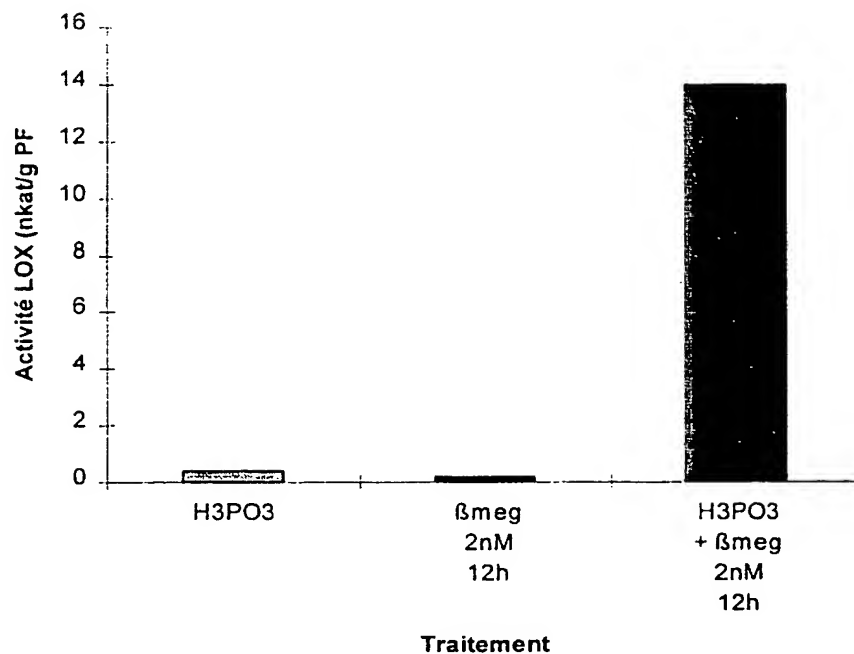
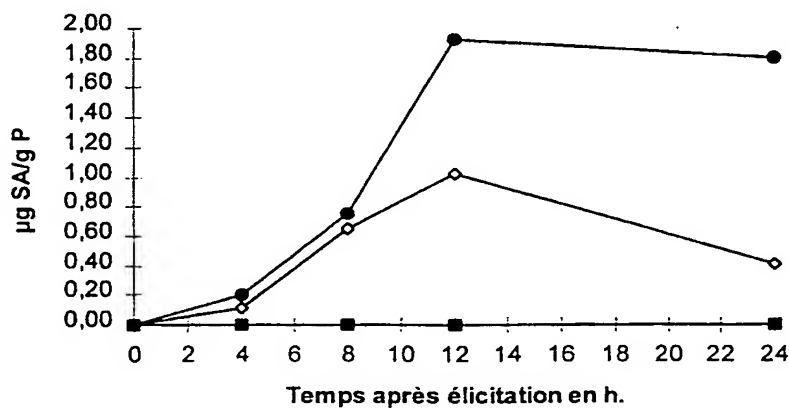


Figure 7. Influence de H3PO3 sur l'activité lipoxigénase (LOX) de cultures cellulaires de tabac après induction par 2nM de β-mégaspermine.



5

Figure 8. Accumulation d'AS dans des cultures cellulaires de tabac préconditionnées ou non par H3PO3 et élicitées par 5nM de β-mégaspermine (même légende que figure 6 mais en remplaçant 2nM par 5nM).

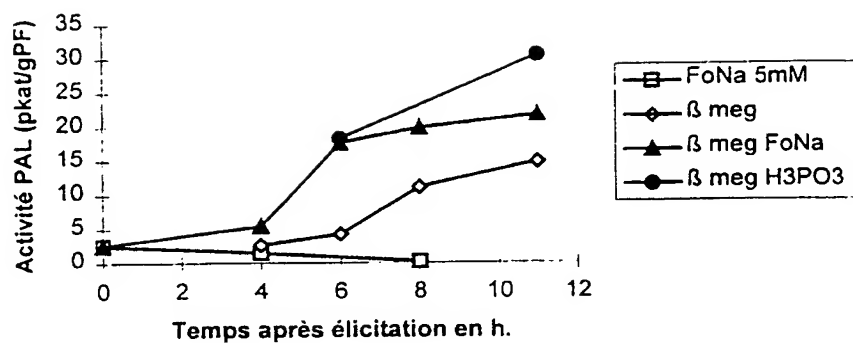


Figure 9. Influence du conditionnement des cultures cellulaires de tabac par H₃PO₃ et le fosétyl-Na sur l'induction de l'activité PAL après élicitation par 2nM de β-mégaspermine.

5

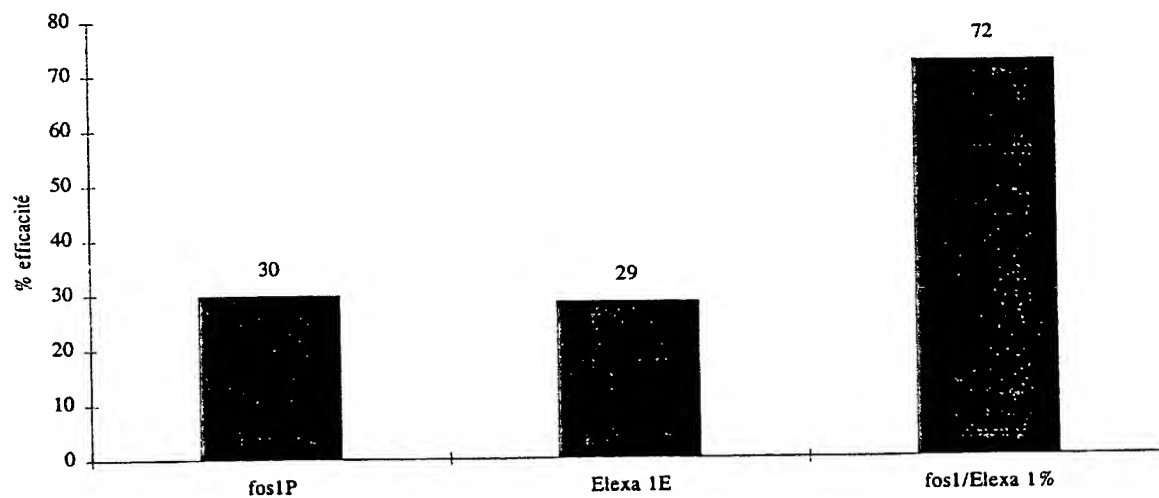


Figure 10. Association fosétyl Al à 1 kg /ha et Elexa™ 1% synergique selon Colby.

10

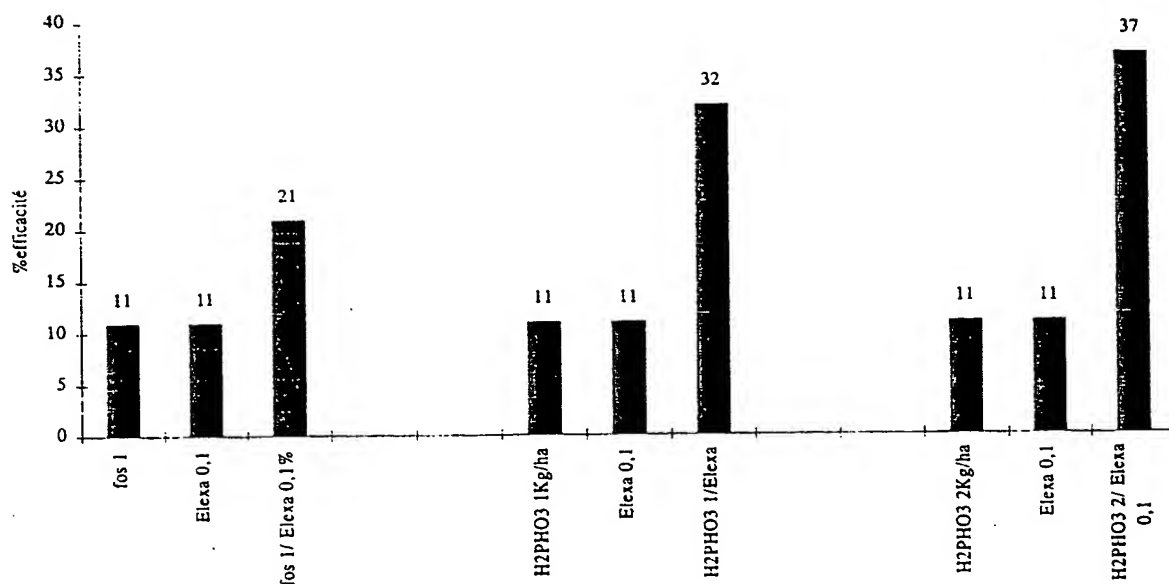


Figure 11. Effet synergique entre le fosétyl Al appliqué à 1 kg/ha ou H2PHO3 appliqué à 1 ou 2 kg/ha et le produit Elexa™ appliqué en tant qu'éléciteur à 0,1 % adjuvanté de 0,1 % de R56 dans la bouillie d'application vis à vis de l'oidium du blé.

5

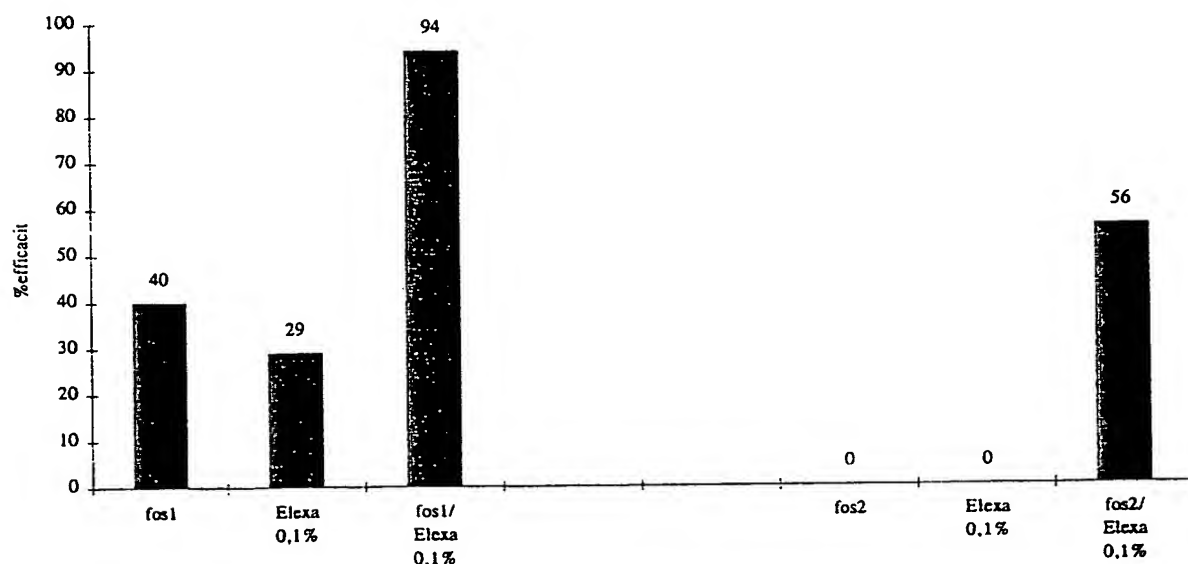


Figure 12. Synergie selon Colby entre le fosétyl Al (fos1 et fos2 appliqué respectivement à 1 ou 2 kg/ha) comme potentialisateur et l'Elexa™ (à 0,1 %) appliqué comme éléciteur contre le mildiou de la vigne.

10

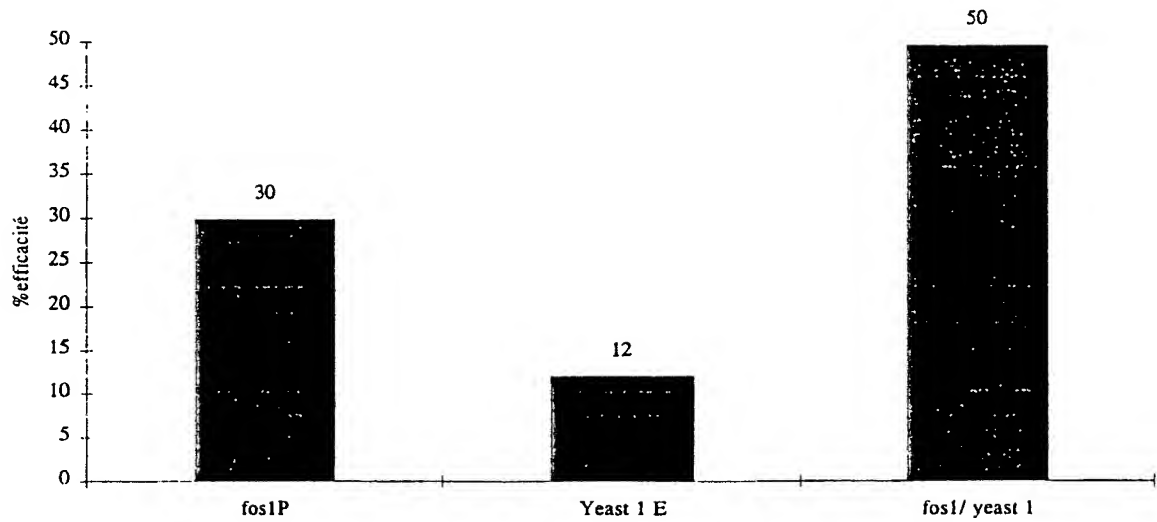


Figure 13. Association fosétyl Al à 1kg /ha et Extrait de levure synergique selon Colby.

5

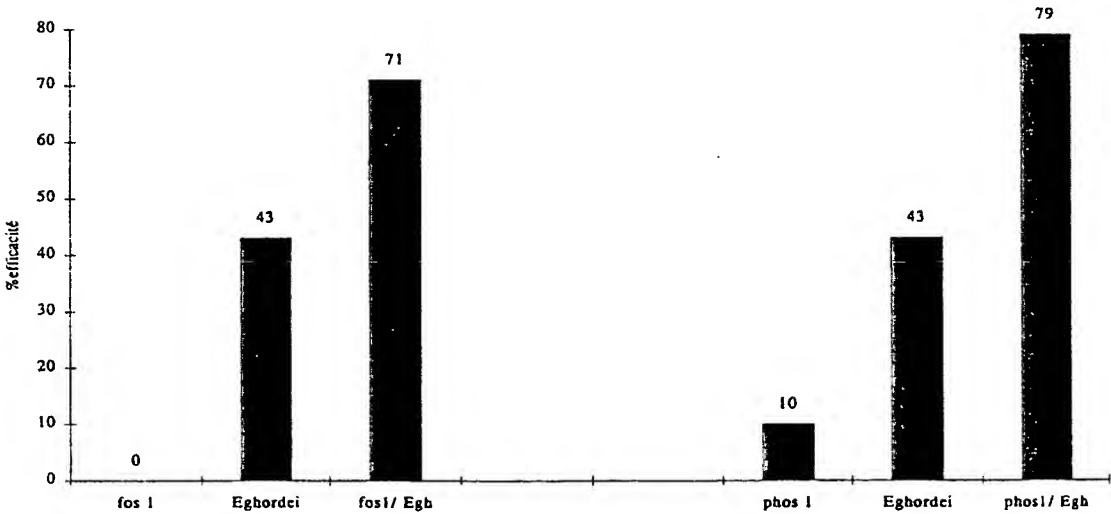


Figure 14. Association synergique selon Colby entre le fosétyl Al à 1kg /ha (fos1) ou H2PHO3 à 1 kg/ha (phos1) et un traitement éliciteur assuré par des spores d'oidium de l'orge (*Erysiphe graminis* f.sp. *hordei*).

10

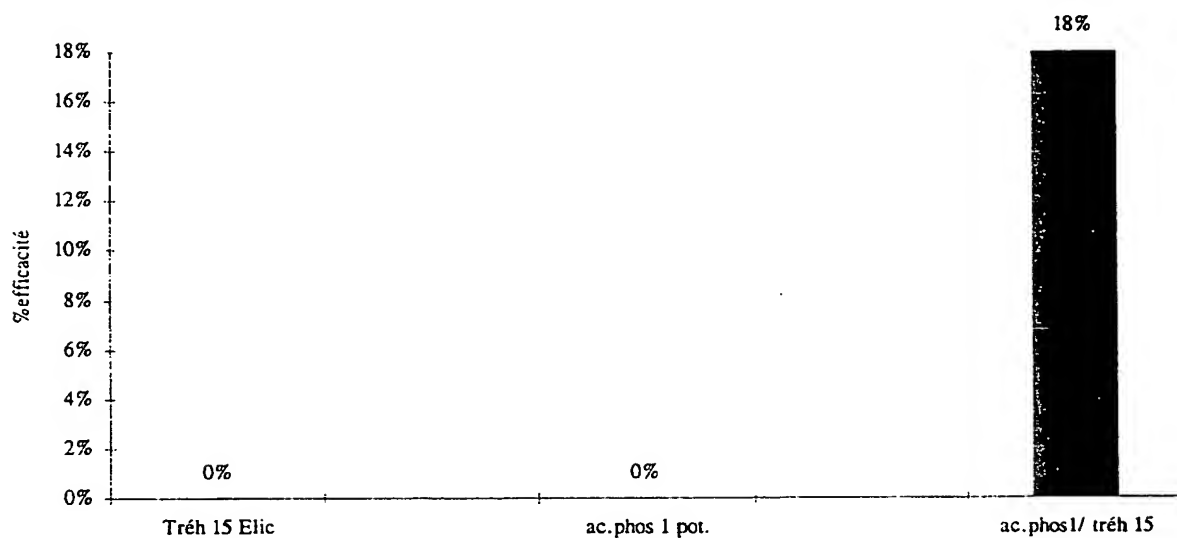
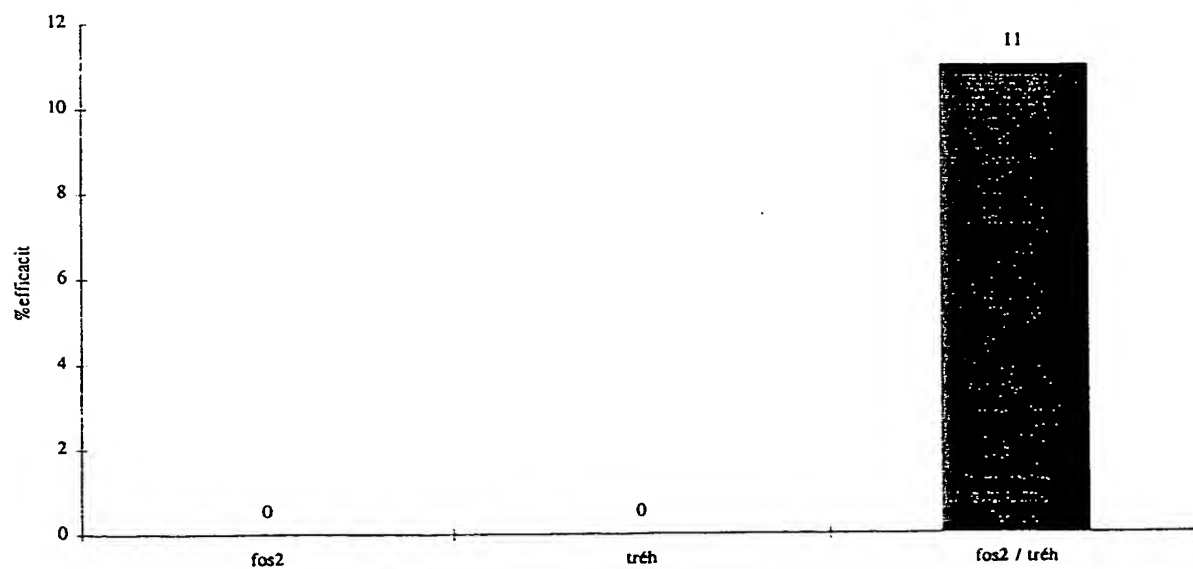


Figure 15. Association synergique selon Colby entre H₂PHO₃ (ac. Phos 1 pot.) à 1 kg /ha en tant que potentialisateur et le tréhalose (15 g/l) en tant qu'élévateur (Tréh 15 Elic.) contre l'oidium du blé.

5



10

Figure 16. Influence du fosétyl AI (2 kg/ha) sur le mildiou de la vigne après induction par un élévateur oligosaccharidique, le tréhalose à 15g/l (Prolabo).

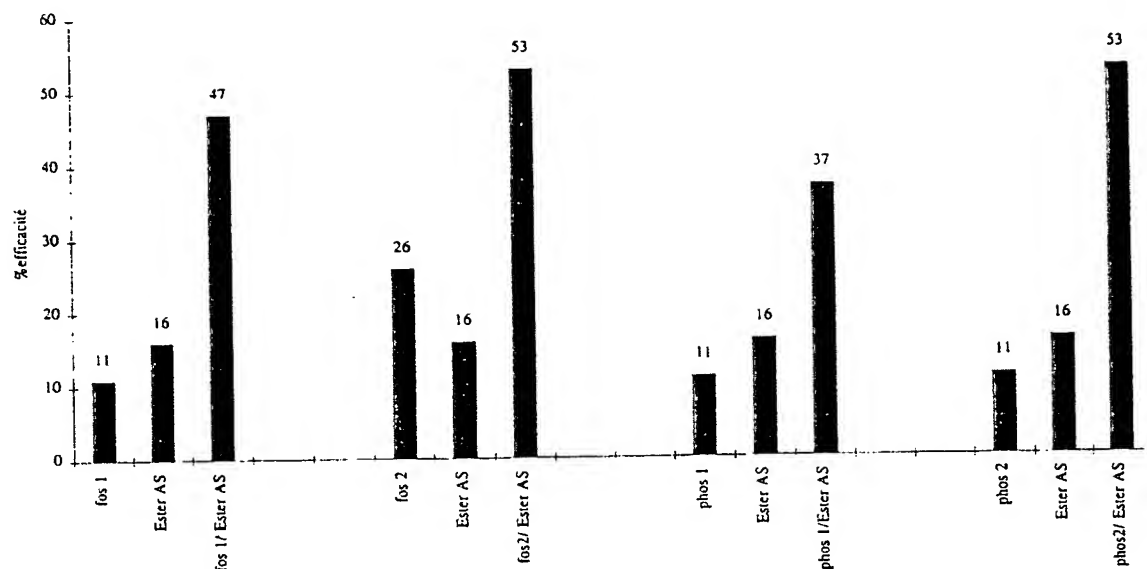


Figure 17. Association synergique selon Colby entre fosétyl Al (fos1 à 1kg/ha et fos2 à 2 kg/ha) ou H₂PHO₃ (phos1 à 1kg/ha et phos2 à 2 kg/ ha) et acide salicylique (ester AS 1g/l) contre l'oidium du blé.

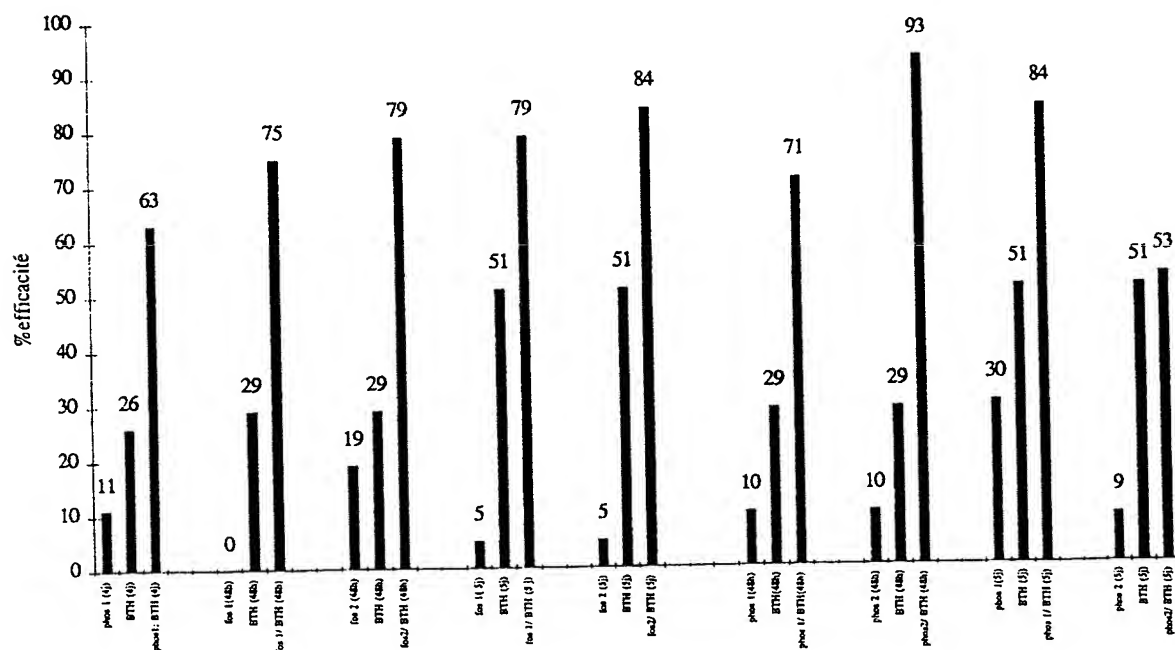


Figure 18. Influence de H₂PHO₃ à 1 kg/ha (phos1) ou du fosétyl Al (fos1 ou fos2 respectivement à 1 et 2 kg/ ha) sur l'oidium du blé après induction par un éliciteur de type Bion™ (BTH) appliqué à la dose de 30g/ha 48 heures après le potentialisateur et 48 heures ou 4 ou 5 jours avant la contamination.

10 / 11

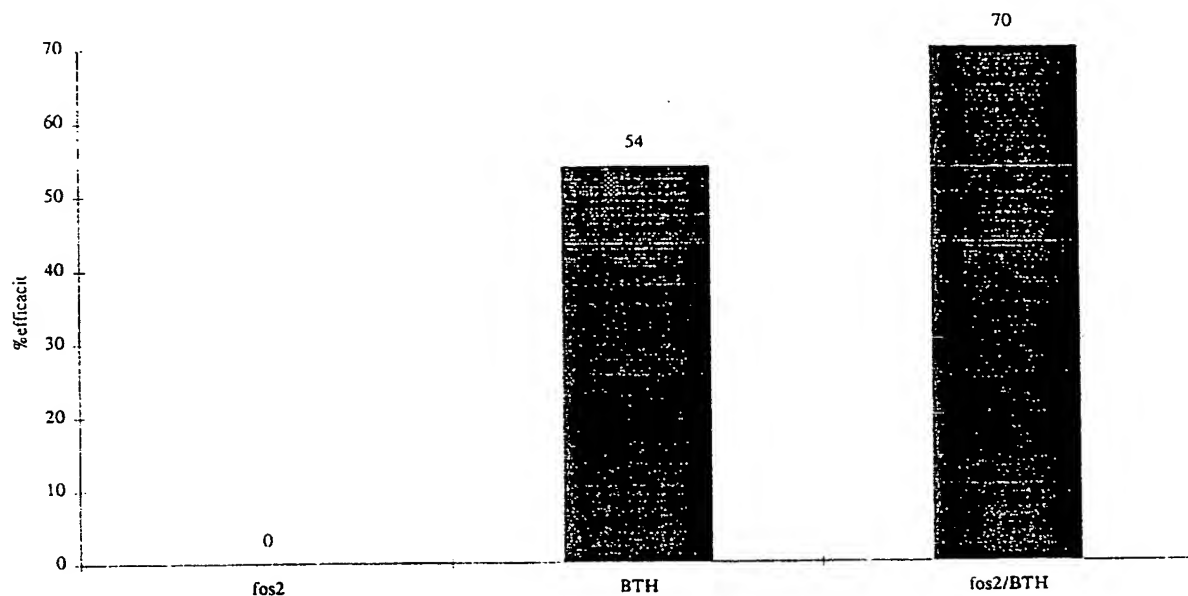


Figure 19. Influence du fosétyl AI (fos2 à 2 kg/ ha) sur mildiou de la vigne associé au bion™ (BTH à 30 g/ha).

5

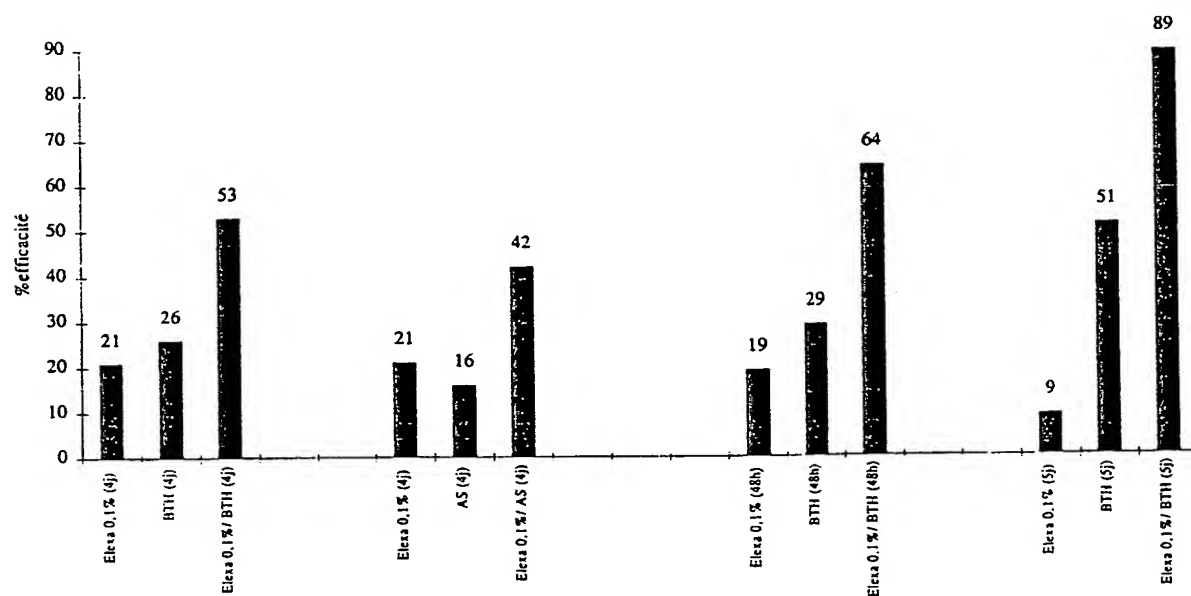


Figure 20. Synergie entre l'effet potentialisateur d'Elexa™ à 0,1% et un éliciteur de type bion™ (BTH à 30g/ha) ou l'acide salicylique (à 1g/l) contre l'oidium du blé.

10

Activité PAL, élicitation par oligomères de pectine 10 μ g/ml

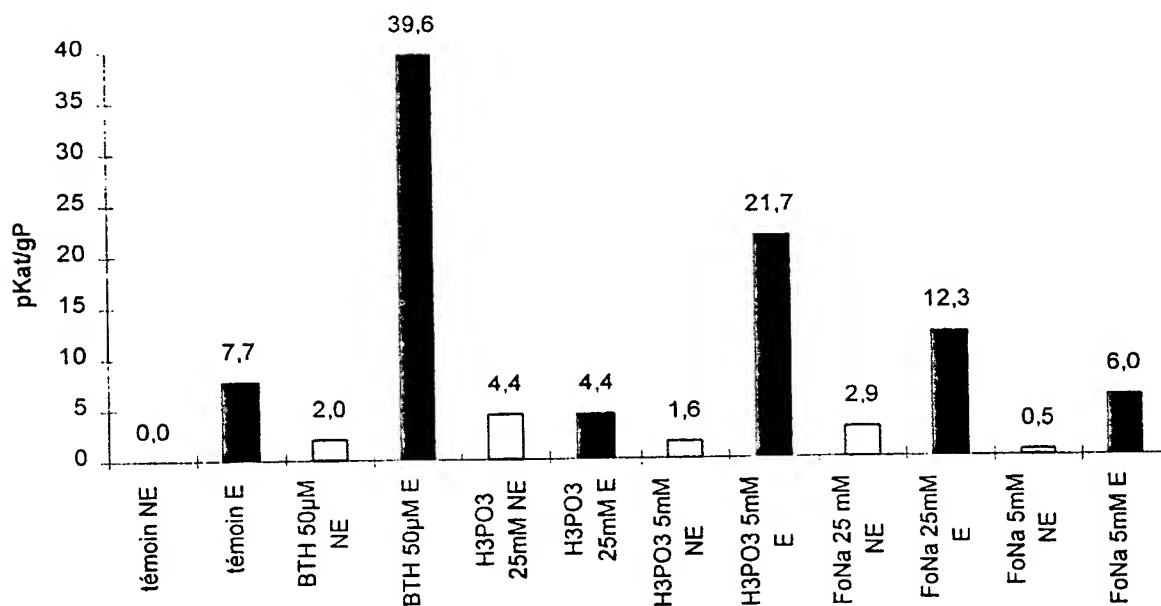


Figure 21. On confirme dans cet exemple l'amplification de l'activité Pal sur des cellules de tabac potentialisées avec H3PO3 et le fosétyl de sodium **ainsi qu'avec le BTH** et élicitées par un oligomère de pectine appliqué à 10 μ g/ml (E = élicité et NE = non élicité).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 99/00844

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 A01N61/00 A01N59/26 A01N57/12 A01N43/16 //(A01N59/26,
65:00,63:04,63:02,61:00,43:82,43:16,37:46,37:40),(A01N57/12,
65:00,63:04,63:02,61:00,43:82,43:16,37:46,37:40),(A01N43/16,

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 A01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>BIOLOGICAL ABSTRACTS, vol. 1998, Philadelphia, PA, US; abstract no. 186010, B.KAESTNER ET AL.: "Chitinase in cucumber hypocotyls is induced by germinating fungal spores and by fungal elicitors in synergism with inducers of acquired resistance" XP002089791 abstract & PLANT JOURNAL, vol. 13, no. 4, February 1998 (1998-02), pages 447-454,</p> <p style="text-align: center;">--- -/--</p>	1-19



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

8 July 1999

Date of mailing of the international search report

21/07/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Lamers, W

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/FR 99/00844

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 61:00,43:82,37:40)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X,Y	<p>DATABASE CROPU 'Online! STN-International STN-accession no. 98-88654, V.A.KATZ ET AL.: "A benzothiazdiazole primes parsley cells for augmented elicitation of defense responses" XP002089793 abstract & PLANT PHYSIOL., vol. 117, no. 4, 1998, pages 1333-1339, --- -/-</p>	1-19

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

8 July 1999

Date of mailing of the international search report

Name and mailing address of the ISA
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Lamers, W

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 99/00844

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X,Y	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 124, no. 21, 20 May 1996 (1996-05-20) Columbus, Ohio, US; abstract no. 284531, T.L.GRAHAM ET AL.: "Signaling in soybean phenylpropanoid responses. Dissection of primary, secondary, and conditioning effects of light, wounding, and elicitor treatments" XP002089792 abstract & PLANT PHYSIOL., vol. 110, no. 4, 1996, pages 1123-1133, ---	1-19
X,Y	DATABASE CABA 'Online! STN-International STN-accession no. 96:17167, H.KAUSS ET AL.: "Pretreatment of parsley suspension cultures with salicylic acid enhances spontaneous and elicited production of H2O2" XP002089794 abstract & PLANT PHYSIOLOGY, vol. 108, no. 3, 1995, pages 1171-1178, ---	1-19
X,Y	DATABASE CABA 'Online! STN-International STN-accession no. 95:27890, H.KAUSS ET AL.: "Pretreatment of parsley (Petroselinum crispum L.) suspension cultures with methyl jasmonate enhances elicitation of activated oxygen species" XP002089795 abstract & PLANT PHYSIOLOGY, vol. 105, no. 1, 1994, pages 89-94, ---	1-19
X,Y	DATABASE CABA 'Online! STN-International STN-accession no. 95:1588, H.KAUSS ET AL.: "Methyl jasmonate conditions parsley suspension cells for increased elicitation of phenylpropanoid defense responses" XP002089796 abstract & BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, vol. 189, no. 1, 1992, pages 304-308, ---	1-19
X,Y	DD 231 482 A (ADL INST PFLANZENSCHUTZ) 2 January 1986 (1986-01-02) the whole document ---	1-19
	--- -/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Patent Application No

PCT/FR 99/00844

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X,Y	WO 97 01277 A (CIBA GEIGY AG ; RUESS WILHELM (CH); KNAUF BEITER GERTRUDE (DE); KUE) 16 January 1997 (1997-01-16) page 1 - page 3 ----	1-19
X,Y	FR 2 751 845 A (RHONE POULENC AGROCHIMIE) 6 February 1998 (1998-02-06) page 2, line 6 - line 17 page 2, line 20 - line 23 page 2, line 26 - line 27 ----	1-19
X,Y	WO 97 14310 A (NOVONORDISK AS ; FLEUREN ROBERTUS (DK)) 24 April 1997 (1997-04-24) page 3, line 2 - line 5 page 4, line 8 - line 16 page 5, line 34 - line 36 page 6, line 25 ----	1-19
X,Y	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 97, no. 10, 31 October 1997 (1997-10-31) & JP 09 143013 A (YAIZU SUISAN), 3 June 1997 (1997-06-03) abstract ----	1-19
X,Y	DE 196 33 502 A (BAYER AG) 26 February 1998 (1998-02-26) the whole document ----	1-19
Y	WO 91 06312 A (GENENCOR INT ; ALBERSHEIM PETER (US); BEN YEHOASHUA SHIMSHON (IL); N) 16 May 1991 (1991-05-16) page 9, line 25 - page 10, line 16 ----	1-19
Y	GB 2 279 252 A (RHONE POULENC AGROCHIMIE) 4 January 1995 (1995-01-04) page 1, line 15 - line 21 page 8, line 27 - line 28 page 9, line 2 ----	1-19
X,Y	FR 2 748 631 A (AGROCEAN) 21 November 1997 (1997-11-21) page 1, line 23 - page 2, line 20 page 3, line 20 - line 24 page 11, line 1 - line 3 ----	1-5,7, 9-19

	-/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 99/00844

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>DATABASE CROPU 'Online! STN-International STN-accession no. 98-90419, J.M.JOUBERT ET AL.: "A beta 1-3 glucan specific to a marine alga, stimulates plant defence reactions and induces a broad range resistance against pathogens" XP002108577 abstract & PROC.BR.CROP.PROT.CONF.PESTS DIS., vol. 2, 1998, pages 441-448,</p>	1-5,7, 9-19
X	<p>PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 95, no. 5, 30 June 1995 (1995-06-30) & JP 07 048214 A (MITSUI ENG & SHIPBUILD), 21 February 1995 (1995-02-21) abstract</p>	1,2,9, 14-19
X	<p>DATABASE CROPU 'Online! STN-International STN-accession no. 94-80365, C.M.STEVENI ET AL.: "Some Properties of a Seaweed Extract Based on Ascophyllum nodosum when Sprayed, In Conjunction with an Adjuvant or Fungicide, on to a Barley Crop Infected with Erysiphe graminis (Cereal Mildew)" XP002108607 abstract & J.SCI.FOOD AGRIC., vol. 63, no. 1, 1993, page 128</p>	1,2,9, 14-19
X	<p>FR 2 576 749 A (GOEMAR LAB SA) 8 August 1986 (1986-08-08) the whole document</p>	1,2,9, 14-19
P,X	<p>WO 98 29537 A (CIBA GEIGY AG) 9 July 1998 (1998-07-09) claims 1,25,27,30</p>	1-19
P,X	<p>WO 98 46078 A (COHEN YIGAL ;KORAT MOSHE (IL); ZVI TOV DAN (IL); AGROGENE LTD (IL)) 22 October 1998 (1998-10-22) claim 1</p>	1-19

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 99/00844

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DD 231482	A	02-01-1986	NONE	
WO 9701277	A	16-01-1997	AU 690469 B AU 6358796 A CA 2220114 A CZ 9704199 A EP 0836385 A PL 323674 A ZA 9605513 A	23-04-1998 30-01-1997 16-01-1997 13-05-1998 22-04-1998 14-04-1998 30-12-1996
FR 2751845	A	06-02-1998	NONE	
WO 9714310	A	24-04-1997	AU 7279496 A	07-05-1997
JP 09143013	A	03-06-1997	NONE	
DE 19633502	A	26-02-1998	NONE	
WO 9106312	A	16-05-1991	AT 180675 T CA 2071881 A DE 69033137 D EP 0497865 A	15-06-1999 28-04-1991 08-07-1999 12-08-1992
GB 2279252	A	04-01-1995	FR 2706736 A AT 123494 A AU 679738 B AU 6484994 A BE 1008436 A BR 9401843 A CA 2126656 A CH 688601 A CN 1098253 A CZ 9401548 A DE 4422025 A DK 74494 A ES 2070792 A FR 2708415 A GR 94100307 A HR 940363 A HU 67998 A,B IT 1269941 B JP 7059411 A LU 88502 A NL 9401039 A NZ 260826 A PL 303948 A PT 101533 A SE 9402200 A SI 9400260 A SK 75994 A ZA 9404509 A	30-12-1994 15-06-1999 10-07-1997 05-01-1995 07-05-1996 02-05-1995 24-12-1994 15-12-1997 08-02-1995 18-01-1995 05-01-1995 24-12-1994 01-06-1995 10-02-1995 28-02-1995 31-12-1996 21-03-1995 16-04-1997 07-03-1995 01-02-1996 16-01-1995 27-02-1996 09-01-1995 31-03-1995 24-12-1994 28-02-1995 05-01-1995 05-04-1995
FR 2748631	A	21-11-1997	NONE	
JP 07048214	A	21-02-1995	NONE	
FR 2576749	A	08-08-1986	EP 0253035 A	20-01-1988

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 99/00844

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9829537 A	09-07-1998	AU 5859798 A ZA 9711558 A	31-07-1998 28-08-1998
WO 9846078 A	22-10-1998	AU 6850598 A ZA 9803187 A	11-11-1998 23-10-1998

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dem Internationale No
PCT/FR 99/00844

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE CIB 6 A01N61/00 A01N59/26 A01N57/12 A01N43/16 //(A01N59/26, 65:00,63:04,63:02,61:00,43:82,43:16,37:46,37:40),(A01N57/12, 65:00,63:04,63:02,61:00,43:82,43:16,37:46,37:40),(A01N43/16, Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) CIB 6 A01N Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	BIOLOGICAL ABSTRACTS, vol. 1998, Philadelphia, PA, US; abstract no. 186010, B.KAESTNER ET AL.: "Chitinase in cucumber hypocotyls is induced by germinating fungal spores and by fungal elicitors in synergism with inducers of acquired resistance" XP002089791 abrégé & PLANT JOURNAL, vol. 13, no. 4, février 1998 (1998-02), pages 447-454, --- -/--	1-19
<input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents <input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
* Catégories spéciales de documents cités: "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier "&" document qui fait partie de la même famille de brevets		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée 8 juillet 1999		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale 21/07/1999
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Fonctionnaire autorisé Lamers, W

Formulaire PCT/ISA/210 (deuxième feuille) (juillet 1992)

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Den : Internationale No

PCT/FR 99/00844

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 6 61:00,43:82,37:40)

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X,Y	<p>DATABASE CROPU 'Online! STN-International STN-accession no. 98-88654, V.A.KATZ ET AL.: "A benzothiazdiazole primes parsley cells for augmented elicitation of defense responses" XP002089793 abrégé & PLANT PHYSIOL., vol. 117, no. 4, 1998, pages 1333-1339,</p> <p style="text-align: center;">--- -/--</p>	1-19

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

8 juillet 1999

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Lamers, W

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X,Y	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 124, no. 21, 20 mai 1996 (1996-05-20) Columbus, Ohio, US; abstract no. 284531, T.L.GRAHAM ET AL.: "Signaling in soybean phenylpropanoid responses. Dissection of primary, secondary, and conditioning effects of light, wounding, and elicitor treatments" XP002089792 abrégé & PLANT PHYSIOL., vol. 110, no. 4, 1996, pages 1123-1133, ---	1-19
X,Y	DATABASE CABA 'Online! STN-International STN-accession no. 96:17167, H.KAUSS ET AL.: "Pretreatment of parsley suspension cultures with salicylic acid enhances spontaneous and elicited production of H2O2" XP002089794 abrégé & PLANT PHYSIOLOGY, vol. 108, no. 3, 1995, pages 1171-1178, ---	1-19
X,Y	DATABASE CABA 'Online! STN-International STN-accession no. 95:27890, H.KAUSS ET AL.: "Pretreatment of parsley (Petroselinum crispum L.) suspension cultures with methyl jasmonate enhances elicitation of activated oxygen species" XP002089795 abrégé & PLANT PHYSIOLOGY, vol. 105, no. 1, 1994, pages 89-94, ---	1-19
X,Y	DATABASE CABA 'Online! STN-International STN-accession no. 95:1588, H.KAUSS ET AL.: "Methyl jasmonate conditions parsley suspension cells for increased elicitation of phenylpropanoid defense responses" XP002089796 abrégé & BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, vol. 189, no. 1, 1992, pages 304-308, ---	1-19
X,Y	DD 231 482 A (ADL INST PFLANZEN SCHUTZ) 2 janvier 1986 (1986-01-02) le document en entier ---	1-19
	--- -/--	

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dem : Internationale No

PCT/FR 99/00844

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X,Y	WO 97 01277 A (CIBA GEIGY AG ; RUESS WILHELM (CH); KNAUF BEITER GERTRUDE (DE); KUE) 16 janvier 1997 (1997-01-16) page 1 - page 3 ---	1-19
X,Y	FR 2 751 845 A (RHONE POULENC AGROCHIMIE) 6 février 1998 (1998-02-06) page 2, ligne 6 - ligne 17 page 2, ligne 20 - ligne 23 page 2, ligne 26 - ligne 27. ---	1-19
X,Y	WO 97 14310 A (NOVONORDISK AS ; FLEUREN ROBERTUS (DK)) 24 avril 1997 (1997-04-24) page 3, ligne 2 - ligne 5 page 4, ligne 8 - ligne 16 page 5, ligne 34 - ligne 36 page 6, ligne 25 ---	1-19
X,Y	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 97, no. 10, 31 octobre 1997 (1997-10-31) & JP 09 143013 A (YAIZU SUISAN), 3 juin 1997 (1997-06-03) abrégé ---	1-19
X,Y	DE 196 33 502 A (BAYER AG) 26 février 1998 (1998-02-26) le document en entier ---	1-19
Y	WO 91 06312 A (GENENCOR INT ; ALBERSHEIM PETER (US); BEN YEHOASHUA SHIMSHON (IL); N) 16 mai 1991 (1991-05-16) page 9, ligne 25 - page 10, ligne 16 ---	1-19
Y	GB 2 279 252 A (RHONE POULENC AGROCHIMIE) 4 janvier 1995 (1995-01-04) page 1, ligne 15 - ligne 21 page 8, ligne 27 - ligne 28 page 9, ligne 2 ---	1-19
X,Y	FR 2 748 631 A (AGROCEAN) 21 novembre 1997 (1997-11-21) page 1, ligne 23 - page 2, ligne 20 page 3, ligne 20 - ligne 24 page 11, ligne 1 - ligne 3 ---	1-5,7, 9-19

	-/--	

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Den : Internationale No
PCT/FR 99/00844

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	<p>DATABASE CROPU 'Online! STN-International STN-accession no. 98-90419, J.M.JOUBERT ET AL.: "A beta 1-3 glucan specific to a marine alga, stimulates plant defence reactions and induces a broad range resistance against pathogens" XP002108577 abrégé & PROC.BR.CROP.PROT.CONF.PESTS DIS., vol. 2, 1998, pages 441-448,</p>	1-5,7, 9-19
X	<p>PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 95, no. 5, 30 juin 1995 (1995-06-30) & JP 07 048214 A (MITSUI ENG & SHIPBUILD), 21 février 1995 (1995-02-21) abrégé</p>	1,2,9, 14-19
X	<p>DATABASE CROPU 'Online! STN-International STN-accession no. 94-80365, C.M.STEVENI ET AL.: "Some Properties of a Seaweed Extract Based on Ascophyllum nodosum when Sprayed, In Conjunction with an Adjuvant or Fungicide, on to a Barley Crop Infected with Erysiphe graminis (Cereal Mildew)" XP002108607 abrégé & J.SCI.FOOD AGRIC., vol. 63, no. 1, 1993, page 128</p>	1,2,9, 14-19
X	<p>FR 2 576 749 A (GOEMAR LAB SA) 8 août 1986 (1986-08-08) le document en entier</p>	1,2,9, 14-19
P,X	<p>WO 98 29537 A (CIBA GEIGY AG) 9 juillet 1998 (1998-07-09) revendications 1,25,27,30</p>	1-19
P,X	<p>WO 98 46078 A (COHEN YIGAL ;KORAT MOSHE (IL); ZVI TOV DAN (IL); AGROGENE LTD (IL)) 22 octobre 1998 (1998-10-22) revendication 1</p>	1-19

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Dem Internationale No

PCT/FR 99/00844

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
DD 231482	A	02-01-1986	AUCUN	
WO 9701277	A	16-01-1997	AU 690469 B	23-04-1998
			AU 6358796 A	30-01-1997
			CA 2220114 A	16-01-1997
			CZ 9704199 A	13-05-1998
			EP 0836385 A	22-04-1998
			PL 323674 A	14-04-1998
			ZA 9605513 A	30-12-1996
FR 2751845	A	06-02-1998	AUCUN	
WO 9714310	A	24-04-1997	AU 7279496 A	07-05-1997
JP 09143013	A	03-06-1997	AUCUN	
DE 19633502	A	26-02-1998	AUCUN	
WO 9106312	A	16-05-1991	AT 180675 T	15-06-1999
			CA 2071881 A	28-04-1991
			DE 69033137 D	08-07-1999
			EP 0497865 A	12-08-1992
GB 2279252	A	04-01-1995	FR 2706736 A	30-12-1994
			AT 123494 A	15-06-1999
			AU 679738 B	10-07-1997
			AU 6484994 A	05-01-1995
			BE 1008436 A	07-05-1996
			BR 9401843 A	02-05-1995
			CA 2126656 A	24-12-1994
			CH 688601 A	15-12-1997
			CN 1098253 A	08-02-1995
			CZ 9401548 A	18-01-1995
			DE 4422025 A	05-01-1995
			DK 74494 A	24-12-1994
			ES 2070792 A	01-06-1995
			FR 2708415 A	10-02-1995
			GR 94100307 A	28-02-1995
			HR 940363 A	31-12-1996
			HU 67998 A, B	21-03-1995
			IT 1269941 B	16-04-1997
			JP 7059411 A	07-03-1995
			LU 88502 A	01-02-1996
			NL 9401039 A	16-01-1995
			NZ 260826 A	27-02-1996
			PL 303948 A	09-01-1995
			PT 101533 A	31-03-1995
			SE 9402200 A	24-12-1994
			SI 9400260 A	28-02-1995
			SK 75994 A	05-01-1995
			ZA 9404509 A	05-04-1995
FR 2748631	A	21-11-1997	AUCUN	
JP 07048214	A	21-02-1995	AUCUN	
FR 2576749	A	08-08-1986	EP 0253035 A	20-01-1988

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Dem. Internationale No

PCT/FR 99/00844

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9829537 A	09-07-1998	AU 5859798 A ZA 9711558 A	31-07-1998 28-08-1998
WO 9846078 A	22-10-1998	AU 6850598 A ZA 9803187 A	11-11-1998 23-10-1998

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

THIS PAGE BLANK (USPTO)